BAND 26, HEFT 2 APRIL 1956

PHYTOPATHOLOGISCHE ZEITSCHRIFT

Begründet von Prof. Dr. E. Schaffnit

Unter Mitwirkung von

Prof. Dr. E. Baldacci, Mailand / Prof. Dr. H. Braun, Bonn / Prof. Dr. W. B. Brierley, Keswick-Cumberland / Prof. Dr. Takewo Hemmi, Kyoto / Oberreg.-Rat i. R. Dr. E. Köhler, Braunschweig / Prof. Dr. K. O. Müller, Canberra / Prof. Dr. H. M. Quanjer, Wageningen Prof. Dr. Tr. Savulescu, Bukarest / Prof. Dr. E. C. Stakman, St. Paul

herausgegeben von den Professoren

E. Gäumann
Zürich

M. Klinkowski
Aschersleben

H. Richter
Berlin-Dahlem



Mit 12 Abbildungen

1956

PAUL PAREY IN BERLIN UND HAMBURG

Phytopath. Z. Bd. 26, Heft, 2 S. 113—224, Berlin 1956



INHALT

Abhandlungen

Kurze Mitteilungen

Manuskripte: In deutscher, englischer, französischer oder italienischer Sprache abgefaßte Originalarbeiten werden druckfertig und möglichst in Schreibmaschinenschrift erbeten. Aufnahme von Tabellen und Abbildungen unterliegt jeweils vorheriger Vereinbarung.

„Kurze Mitteilungen“ sind solche Veröffentlichungen in den vorerwähnten Sprachen, die im allgemeinen einen Umfang von vier Druckseiten nicht übersteigen. Sie erscheinen möglichst schon im nächsten Heft.

Die „Besprechungen“ erscheinen nur in deutscher Sprache.

Herausgeber: Prof. Dr. E. Gäumann, Zürich 6, Universitätsstraße 2, Prof. Dr. M. Klinkowski, Aschersleben, Ermslebener Str. 52, und Prof. Dr. H. Richter, Berlin-Dahlem, Königin-Luise-Str. 19.

Zusendung der Manuskripte von Originalarbeiten und „Kurzen Mitteilungen“ entweder an den Verlag Paul Parey, Berlin SW 68, Lindenstraße 44/47, oder an einen der drei Herausgeber.

Zusendung der „Besprechungen“ unmittelbar an Prof. Richter, Berlin-Dahlem. Soweit nicht eine Aufforderung der Herausgeber zur Besprechung bestimmter Arbeiten ergangen ist, empfiehlt es sich, Prof. Richter vorher von der Absicht der Besprechung zu verständigen.

Honorierung: Das Mitarbeiterhonorar für Originalarbeiten und „Kurze Mitteilungen“ beträgt 32,— DM je Druckbogen von 16 Seiten. Bei Beiträgen von mehr als drei Bogen werden nur die ersten drei Bogen honoriert; Dissertationen und Buchbesprechungen sind honorarfrei.

Sonderdrucke: Jeder Mitarbeiter erhält unberechnet 20 Sonderdrucke seines Beitrages (Originalarbeiten und Kurze Mitteilungen). Mehrbedarf gegen Berechnung.

Erscheinungsweise: Die Zeitschrift erscheint in zwangloser Folge. Jährlich erscheinen etwa 10—12 Hefte, von denen 4 einen Band bilden. Jeder Band enthält etwa 30 Druckbogen.

Bezugsbedingungen: Der Preis des Bandes richtet sich nach dem Umfang. Er beträgt je Druckbogen von 16 Seiten etwa 3,— DM. Die Hefte sind auch einzeln käuflich. Das Abonnement verpflichtet zum Bezug eines ganzen Bandes. Es verlängert sich jeweils, falls nicht spätestens unverzüglich nach Eingang der letzten Lieferung des berechneten Bandes Abbestellung erfolgt.

Abonnementspreis dieses Heftes 21,40 DM   Einzelpreis 23,60 DM

Aus dem Max-Planck-Institut für Züchtungsforschung (Erwin-Baur-Institut)
Köln-Vogelsang
Direktor: Prof. Dr. W. Rudorf

Erdbeervirosen in Deutschland

II. Isolierung nicht persistenter Viren aus einigen Kultursorten

Von

G. SCHÖNIGER

Mit 2 Abbildungen

Einleitung

In einem früher durchgeführten Pfropfungsversuch (SCHÖNIGER und BAUER, 1955) war festgestellt worden, daß 75 % von 69 überprüften Sorten bzw. Herkünften latent Virosen enthielten. Der Ausdruck „latent" muß zum gegenwärtigen Zeitpunkt allerdings noch mit einem gewissen Vorbehalt verwendet werden, da uns zum Großteil gesunde Klone zum Vergleichen fehlen. In keinem Fall aber konnten wir bei den bisher überprüften Sorten bzw. Herkünften derart auffallende Symptome feststellen, wie sie beispielsweise die sehr sensiblen Sorten „Royal Sovereign" in England oder „Marshall" in den USA bei Infektion mit dem Blattrandvergilbungsvirus oder mit dem Kräuselvirus zeigen.

In dem eben erwähnten Pfropfungsversuch wurden auf Grund verschiedener Symptome auf der Indikatorpflanze *Fragaria vesca* L., Klon East Malling, sechs ± scharf abgegrenzte Virosegruppen aufgestellt. Im folgenden wird ein Bericht über die Isolierung bzw. über die Analyse nicht persistenter Viren aus drei dieser Gruppen gegeben.

Versuche

1. Material, Methoden

Als Indikatorpflanze wurde wiederum *Fragaria vesca* East Malling verwendet, und zwar möglichst junge Ausläuferpflanzen. Es wurde darauf geachtet, daß sich sämtliche Versuchspflanzen im gleichen Wachstumszustand befanden: das jüngste Blatt war immer knapp vor dem Entfalten. Auf dieses Blatt wurden auch stets die Vektoren gesetzt.

Um die Vektoren am Jungblatt, d. h. zwecks schneller Übertragung auf die nächstfolgende Pflanze dicht beieinander lokalisiert zu halten, wurde um dieses Blatt ein kleiner Käfig gegeben. Da die Vektorenübertragungen nicht im läusesicheren Gewächshaus, in dem die Versuche zur weiteren Beobachtung standen, durchgeführt wurden, schützte eine perforierte Trans-

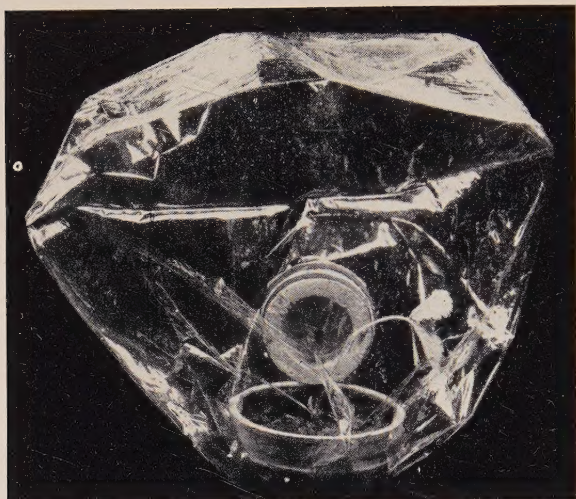


Abb. 1. Indikatorpflanze zur Zeit ihrer Besiedlung mit Vektoren

parittüte die Indikatorpflanzen gegen Zufallsinfektion (Abb. 1).

Die Isolierung und Analyse der Viren erfolgte durch mehrere aufeinander folgende Übertragungen infektiöser Vektoren (*Pentatrichopus fragaefolii* [CKLL.]). Es wurden dabei a) die Aufnahmezeiten der Vektoren auf den Infektorpflanzen (= Sortenpflanzen = Träger einer bestimmten Virose) und b) die Saugzeiten auf den Indikatorpflanzen in den einzelnen Übertragungen variiert.

Auf Grund der Erfahrungen bei den ersten Hauptversuchen wurden bei den eigentlichen Analysenversuchen immer 10 Vektoren je Indikator verwendet. Es kamen nur ungeflügelte Tiere zur Verwendung. Am Ende der letzten Übertragung wurden die Läuse von den Indikatoren abgesammelt, die Pflanzen mit 0,05prozentigem Systox abgespritzt, zur Beobachtung ins insektensichere Gewächshaus gebracht und weiterhin regelmäßig mit E 605 gespritzt.

Die Beobachtung der Versuche erfolgte bis zum Einsatz der Anfangssymptome der nicht persistenten Viren täglich, später wöchentlich.

Für die Analyse der Virosen bzw. Viren erwies sich folgendes Schema als zweckmäßig:

A) Hauptversuch zur Isolierung der nicht persistenten Viren von eventuell vorhandenen persistenten Viren: Saugzeit der Vektoren (Stamm) auf dem Infektor einige Wochen. Saugzeiten auf den Indikatorpflanzen in zehn aufeinanderfolgenden Übertragungen: 1 Stunde, 3 Stunden, 6 Stunden, 12 Stunden, dreimal 24 Stunden und dreimal 48 Stunden. Auf den Kontrollpflanzen verblieben die Vektoren ungefähr zehn Tage. Je Übertragung wurden je vier Pflanzen verwendet.

B) Analysenversuche zur näheren Erfassung der nicht persistenten Viren: Die Saugzeiten auf dem Infektor nehmen von 15 min über 30 min, 45 min, 60 min, 120 min bis auf 180 min zu. Zu jeder dieser Aufnahmezeiten gehört eine Serie von sechs Übertragungen, die zeitlich wie die Aufnahmezeiten gestaffelt sind. Die Saugzeiten auf den Indikatorpflanzen steigern sich also von 15 min in der ersten Übertragung bis zu 180 min in der sechsten Übertragung. Auf den Kontrollpflanzen verblieben die Vektoren $7^1/_2$ Stunden. Je Übertragung wurden wiederum je vier Pflanzen verwendet.

C) Die Analyse des einzigen bisher isolierten persistenten Virus mußte vorläufig zurückgestellt werden. Es zeigte sich nämlich, daß die Symptomausprägung sehr umweltsbedingt ist. Da gegenwärtig noch nicht die Möglichkeit besteht, diese Bedingungen im Gewächshaus zu studieren bzw. zu bieten, können in dieser Arbeit demnach nur die nicht persistenten Viren beschrieben werden.

2. Versuchsergebnisse

a) Versuche mit der Sorte „Pillnitz"

Die durch Pfropfung aus den Sorten „Pillnitz", „Amazone" und „Bavaria" erhaltene Virose hatte sich auf *Fragaria vesca* als deutliche Verzwergung gezeigt und war als Virusgruppe 5 klassifiziert worden (Schöniger und Bauer, 1955).

Bei Übertragung mit *Pentatrichopus fragaefolii* Ckll. brachte der Hauptversuch ein Ergebnis, wie es in Tabelle 1 dargestellt ist. Da es sich bei diesem Hauptversuch um den ersten Versuch überhaupt handelte, wurde das früher erwähnte Schema noch nicht in seiner endgültigen Form eingehalten. Die Saugzeit der Vektoren (Stamm) auf dem Infektor (Sorte „Pillnitz") betrug zehn Wochen. Je Indikator wurden fünf Läuse verwendet.

Tabelle 1

Übertragung	Saugzeit auf dem Indikator	Infiz. Pflz./Anz. Pflz.	Erste Symptome nach
1	3 Std.	3 / 4	14—15 Tagen
2	6 Std.	0 / 4	—
3	12 Std.	0 / 4	—
4	24 Std.	0 / 4	—
5	24 Std.	0 / 4	—
6	24 Std.	0 / 4	—
7	24 Std.	4 / 4	28 Tagen
8	48 Std.	2 / 4	28 Tagen
9	48 Std.	1 / 4	28 Tagen
10	48 Std.	1 / 4	28 Tagen
11	48 Std.	0 / 4	—
K	13 Tage	0 / 4	—

Es traten also auf drei von vier Pflanzen der ersten Übertragung (Saugzeit 3 Stunden) nach 14 bis 15 Tagen die ersten Symptome auf. Diese Anfangssymptome stellten sich dar in unregelmäßiger Blättchengröße, wobei die Blätter in der Regel einseitig waren; nur selten war das mittlere Blättchen kleiner. Die einzelnen Blättchen waren nach hinten gebogen, und zwar das verkleinerte Blättchen am stärksten, der Blattstiel war etwas verkürzt (Abb. 2 oben rechts). Das nächste Jungblatt, das sich in der folgenden Woche entfaltete, zeigte in der Regel besonders starke Symptome, bestehend in chlorotischen, z. T. auch nekrotischen Verformungen und Kräuselungen (Abb. 2 oben rechts). Die in diesem Anfangsstadium der Erkrankung gebildeten Ausläufer blieben sehr kurz und waren am apikalen Ende stark gebogen. Nach unge-

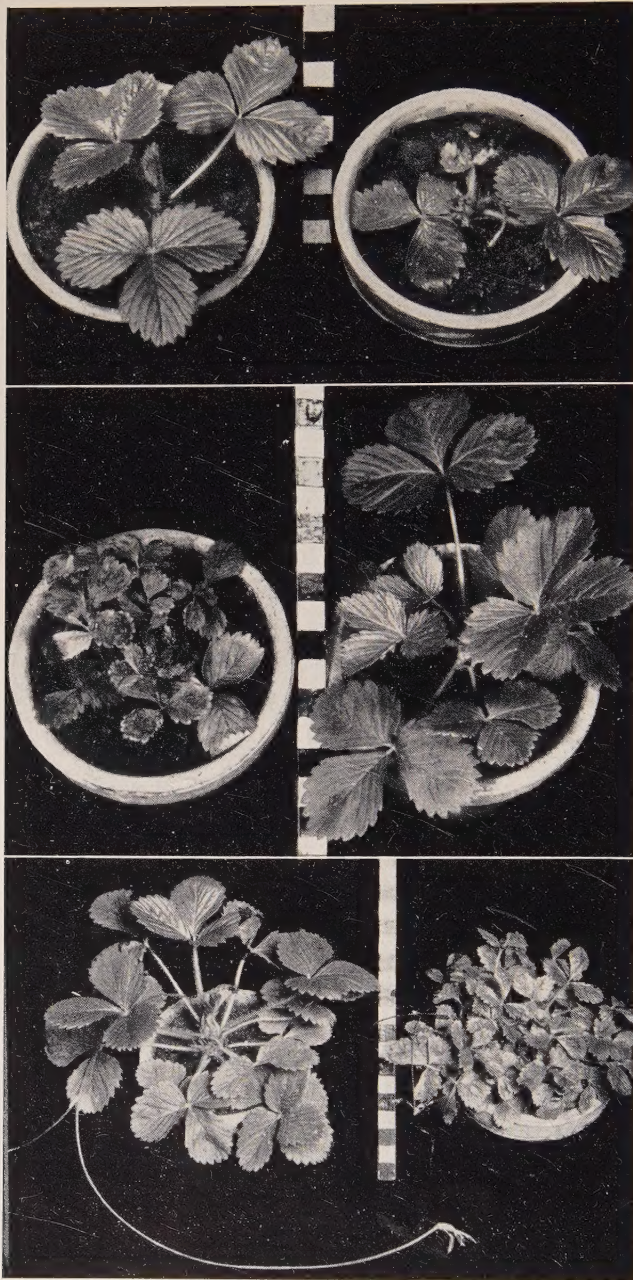


Abb. 2. Positive Indikatorpflanze und Kontrollpflanze aus den Versuchen mit der Sorte „Pillnitz“ in drei verschiedenen Altersstadien. (Näheres siehe Text)

fähr fünf Wochen ab Zeitpunkt der Infektion hatten sich auf den Indikatorpflanzen die endgültigen Symptome ausgebildet. Der Habitus der erkrankten Pflanzen änderte sich später nicht mehr wesentlich, wenn auch die Symptome in ihrer Stärke gewisse Schwankungen zeigten (vgl. Abb. 2 mitte links bzw. unten rechts). Die endgültigen Symptome bestanden bei allen drei positiven Pflanzen der ersten Übertragung in deutlicher Blattverkleinerung, Verkürzung der ± verdrehten Blattstiele und in ± unregelmäßiger Blattform bzw. Blattfarbe. Zeitweilig konnten auch einige chlorotische und nekrotische Blattranddeformationen festgestellt werden; Nebenadernchlorosen, -nekrosen, -verkürzungen und Blattkräuselungen traten ebenfalls mitunter auf. Auch die Blüten, besonders die Primärblüte des wenigblütigen Blütenstandes, zeigten Symptome wie ± verkleinerte und unregelmäßig geformte Petalen, kürzere Blütenstiele.

Aus Tabelle 1 wird weiterhin ersichtlich, daß die Pflanzen der siebenten bis zehnten Übertragung ebenfalls verschiedentlich positive Reaktion zeigten. Dieses Virus hatte demnach im Vektor ungefähr vier Tage Latenzzeit. Die Vektoren verblieben etwa eine Woche infektiös. Es handelt sich hier also um ein persistentes Virus. Die Indikatoren zeigten erst nach vier Wochen Symptome. Die Erkrankung äußerte sich in einem etwas gedrungeneren Wuchs: Blätter etwas kleiner, Blattstiele etwas kürzer. Später konnten mitunter überhaupt keine Unterschiede zwischen positiven und negativen Indikatoren bzw. Kontrollpflanzen festgestellt werden. Diese Schwankungen sind wahrscheinlich auf Ernährungszustand, Temperatur, Lichtverhältnisse usw. zurückzuführen. Aus den schon genannten Gründen kann auf dieses Virus hier nicht näher eingegangen werden.

Zur näheren Bestimmung des nicht persistenten Virus wurden die Analysenversuche nach dem auf Seite 114 gegebenen Schema durchgeführt (vgl. Tabelle 2).

Tabelle 2 zeigt, daß bereits nach 30 Minuten Saugzeit auf dem Infektor Übertragung möglich ist. Auf den Indikatoren genügt ein Aufenthalt von 15 Minuten, um positive Reaktion hervorrufen zu können. In der vierten Übertragung — also nach insgesamt 1½ Stunden — zeigt nur mehr eine Pflanze der Versuchsgruppe positive Reaktion. Nach 2½ Stunden — nach der vierten Übertragung — haben die Vektoren ihre Infektionskraft verloren.

Tabelle 2

Übertragung	Infekt.-zeit	Aufnahmezeit						Gesamt
		15 min	30 min	45 min	60 min	120 min	180 min	
1	15 min	. . . .	+ . . .	. . . .	+ + . .	. + . .	. . + .	5
2	30 min	. . . .	. . . .	. . . .	+ + . .	. . + .	+ + + +	7
3	45 min	. . . .	. . . .	. . . .	. + . .	. . + .	+ . + .	4
4	60 min	. . . .	. . . .	. . . .	. . . .	. . + .	. . . .	1
5	120 min	. . . .	. . . .	. . . .	. . . .	. . . .	. . . .	0
6	180 min	. . . .	. . . .	. . . .	. . . .	. . . .	. . . .	0

+ positive Reaktion der Indikatorpflanze; · negative (keine) Reaktion.

Bei der relativ geringen Anzahl Indikatoren je Übertragung im Einzelversuch hat es wenig Sinn, auf die Anzahl Infektionen je Versuch in bezug auf die Aufnahmezeit näher einzugehen. Erwähnen möchte ich aber an dieser Stelle, daß Beobachtungen darauf hindeuten, daß die jeweiligen Temperaturen, besser gesagt Witterungsverhältnisse, Einfluß auf das Verhalten der Vektoren und damit möglicherweise auf die Vektorenwirksamkeit haben.

Bei allen + Pflanzen in den Analysenversuchen entsprachen die Anfangssymptome denen der positiv reagierenden Indikatoren in der ersten Übertragung des Hauptversuches; sie traten nach 8 bis 21 Tagen auf. Die endgültigen Symptome waren jedoch nicht bei allen Pflanzen gleich. Fünfzehn der insgesamt siebzehn positiv reagierenden Indikatoren glichen den mit dem nicht persistenten Virus infizierten Indikatoren des Hauptversuches;

zwei Indikatoren (in zwei verschiedenen Einzelversuchen) wiesen nur ganz geringe Blattverkleinerung und Blattstielverkürzung neben unregelmäßiger Blattfarbe und gelegentlichen Nebenadernchlorosen und -verkürzungen auf. Die Pflanzen mit starken Symptomen bildeten wesentlich kürzere Ausläufer als die mit schwachen Symptomen. Die Ausläuferpflanzen glichen in ihrem Habitus immer den Elternpflanzen.

Die Versuche mit der Sorte „Pillnitz" zeigen:

1. Virose 5 wird sicher durch zwei Komponenten — eine nicht persistente und eine persistente — verursacht. Einen direkten Hinweis gibt der Hauptversuch. Indirekt wird diese Annahme auch durch die Analysenversuche bewiesen: Selbst die stark reagierenden Pflanzen sind in keinem Fall mit solchen Pflanzen zu vergleichen, die durch Pfropfung auf die Sorte „Pillnitz" infiziert wurden.

2. Aus der nicht persistenten Komponente können verschieden stark wirkende Viren isoliert werden, die sich bezüglich ihres Verhaltens im Vektor zumindest sehr ähnlich, wenn nicht identisch verhalten. Es dürfte sich demnach nur um verschiedene Stämme desselben Virus handeln.

In einem weiteren Versuch wurden je fünf Vektoren, die einige Tage auf einer Pillnitz-Pflanze gesaugt hatten, nach drei Stunden Hungern auf zehn *Fragaria vesca*-Sämlinge gebracht. Als Kontrolle wurden auf die gleiche Anzahl Sämlinge ebenfalls fünf Läuse direkt von der Infektorpflanze übertragen. Die Saugzeit auf den Sämlingen betrug drei Stunden. Während bei direkter Übertragung vom Infektor auf die Indikatoren sieben der zehn Indikatoren positive Reaktion ergaben, trat bei den Indikatoren, deren Läuse vorher gehungert hatten, keine Infektion auf. Durch diesen Versuch wurde demnach bestätigt, daß bezüglich des nicht persistenten Virus die Vektoren nach relativ kurzer Zeit nicht mehr infektiös sind.

b) Versuche mit der Sorte „Hochgenuß von Erfurt"

Die Virose, welche im Pfropfungsversuch aus der Sorte „Hochgenuß von Erfurt" isoliert worden war, war der Virosegruppe 3, starke Ausprägung, zugeteilt worden (SCHÖNIGER und BAUER, 1955).

Tabelle 3

Übertragung	Saugzeit auf dem Indikator	Infiz. Pflz./Anz. Pflz.	Erste Symptome nach
1	1 Std.	3 / 4	18—21 Tagen
2	3 Std.	1 / 4	20 Tagen
3	6 Std.	0 / 0	—
4	12 Std.	0 / 0	—
5	24 Std.	0 / 0	—
6	24 Std.	0 / 0	—
7	24 Std.	0 / 0	—
8	48 Std.	0 / 0	—
9	48 Std.	0 / 0	—
10	48 Std.	0 / 0	—
K	10 Tage	0 / 0	—

Der Hauptversuch brachte die in Tabelle 3 dargestellten Ergebnisse. Infektionen erfolgten also nur innerhalb der ersten beiden Übertragungen. Nach vier Stunden hatten die Vektoren ihre Infektionskraft verloren. Die Anfangssymptome der positiv reagierenden Indikatoren entsprachen denen, die durch das nicht persistente Virus der Sorte „Pillnitz“ verursacht wurden: unregelmäßige Blättchengröße, Krümmung der Blättchen nach hinten, Verkürzung der Blattstiele. Die endgültigen Symptome waren etwas schwächer als bei den stark reagierenden Pflanzen der Versuche mit der Sorte „Pillnitz“: ± starke Blattverkleinerung, Verkürzung der ± verdrehten Blattstiele, unregelmäßige Blattfarbe, unregelmäßige Blattform, auch Verwachsen einzelner Blättchen, zeitweilig ± starke chlorotisch-nekrotische Blattranddeformationen, Nebenadernchlorosen und -nekrosen bzw. Nebenadernverkürzungen und Blattkräuselungen.

Tabelle 4

Übertragung	Infekt.-zeit	Aufnahmezeit						Gesamt
		15 min	30 min	45 min	60 min	120 min	180 min	
1	15 min	. . . .	. . . +	+ + + .	. . . +	. . . +	+ + + +	10
2	30 min	. . . .	. . . +	+ . + +	. . . .	. . + .	. + + +	8
3	45 min	. . . .	. . . .	+ . . .	. . . +	. . . +	. + + +	6
4	60 min	. . . .	. . . .	+ . + .	. . . .	. . . .	. . . +	3
5	120 min	. . . .	. . . .	. . . .	. . . .	. . . .	. . . .	0
6	180 min	. . . .	. . . .	. . . .	. . . .	. . . .	. . . .	0

Tabelle 4 zeigt die Analysenversuche dieses nicht persistenten Virus. Es entspricht in seinem Verhalten bezüglich des Vektors dem nicht persistenten Virus bzw. den nicht persistenten Virusstämmen aus der Sorte „Pillnitz“: kürzeste Aufnahmezeit am Infektor 30 Minuten, Mindestzeit für Infektion der Indikatoren 15 Minuten, Inaktivierung im Vektor nach $2^1/_2$ Stunden. Die Primärsymptome traten nach 9 bis 19 Tagen auf; diese Daten unterscheiden sich nur sehr geringfügig von denen der Analysenversuche mit der Sorte „Pillnitz“ (8 bis 21 Tage). Die Anfangssymptome waren wie beim Hauptversuch beschrieben. Die endgültigen Symptome entsprachen bei 25 + Indikatoren ebenfalls denen des Hauptversuchs; zwei Indikatoren (verschiedene Einzelversuche, verschiedene Übertragungen) zeigten nur sehr schwache Symptome.

Die stark reagierenden Indikatoren glichen in ihren Symptomen den *Fragaria vesca*-Pflanzen, die durch Pfropfung auf die Sorte „Hochgenuß von Erfurt“ infiziert worden waren. Es wird demnach die Virosegruppe 3 (stark) nur durch nicht persistente Viren verursacht. Durch V i r e n , weil in den Analysenversuchen verschieden reagierende Indikatoren festgestellt werden konnten. Da jedoch das Verhalten im Vektor und die Zeit bis zum Auftreten der Primärsymptome, sowie die Primärsymptome selbst gleich sind, ist anzunehmen, daß es nur verschiedene Stämme sind.

c) Versuche mit der Selektion 6

Den ersten Überblick über die aus Selektion 6 durch Pfropfung erhaltene Virose = Virosegruppe 2 (SCHÖNIGER u. BAUER, 1955) gab wiederum ein Hauptversuch, der in Tabelle 5 dargestellt ist. Infektionen traten nur innerhalb der ersten beiden Übertragungen auf, also innerhalb der ersten

Tabelle 5

Übertragung	Saugzeit auf dem Indikator	Infiz. Pflz./Anz. Pflz.	Erste Symptome nach
1	1 Std.	4 / 4	10—21 Tagen
2	3 Std.	2 / 4	17—18 Tagen
3	6 Std.	0 / 0	—
4	12 Std.	0 / 0	—
5	24 Std.	0 / 0	—
6	24 Std.	0 / 0	—
7	24 Std.	0 / 0	—
8	48 Std.	0 / 0	—
9	48 Std.	0 / 0	—
10	48 Std.	0 / 0	—
K	10 Tage	0 / 0	—

vier Stunden. Die Anfangssymptome zeigten sich wie bei den vorher beschriebenen Versuchen als ungleiche Blättchengröße, ± einseitiges Zurückbiegen der Blättchen und Verkürzung des Blattstieles. Die endgültigen Symptome waren bei allen + reagierenden Indikatoren sehr einheitlich: geringe Blattverkleinerung, wenig unregelmäßige Blattform, unregelmäßige Blattfarbe, ± chlorotische Flecke und zeitweilig etwas Nebenadernchlorose; Blattstiele nur wenig verkürzt.

Das Ergebnis der Analysenversuche ist in Tabelle 6 dargestellt.

Tabelle 6

Übertragung	Infekt.-zeit	Aufnahmezeit						Gesamt
		15 min	30 min	45 min	60 min	120 min	180 min	
1	15 min	. . . .	. + . .	+ + + +	+ + + +	+ + + +	+ + . +	16
2	30 min	. . . .	. . . .	+ + + +	+ + + +	. + . +	+ . . +	12
3	45 min	. . . .	. . . .	+ . . .	. + + +	+ . + .	+ . . .	7
4	60 min	. . . .	. . . .	. . . .	. + . .	. . . .	. . . .	1
5	120 min	. . . .	. . . .	. . . .	. . . .	. . . .	. . . .	0
6	180 min	. . . .	. . . .	. . . .	. . . .	. . . .	. . . .	0

Das Verhalten bezüglich des Vektors ist identisch mit dem der aus den Sorten „Pillnitz“ und „Hochgenuß von Erfurt“ isolierten nicht persistenten Viren: kürzeste Zeit für die Aufnahme auf dem Infektor 30 Minuten, Mindestzeit für Infektion des Indikators 15 Minuten; nach $2^1/_2$ Stunden

sind die Vektoren nicht mehr infektiös. Die Anfangssymptome traten zwischen dem siebenten und zwölften Tag auf. Sie entsprachen den Anfangssymptomen der - Indikatoren in den vorher beschriebenen Versuchen, nur war das Zurückbiegen der verkleinerten Blättchen besonders stark betont. Das nächste bzw. übernächste Folgeblatt nach dem zuerst betroffenen zeigte sehr einheitlich bei allen Indikatoren neben etwas Spreitenverkleinerung und unregelmäßiger Form ± deutliches Aufbiegen (cupping) der Blattränder. Diese Blätter waren etwas unregelmäßig grün und hatten ± deutliche Randaufhellung. Die endgültigen Symptome glichen bei allen - Indikatoren den an Hand des Hauptversuches beschriebenen.

Da die endgültigen Symptome genau denen entsprechen, die gemäß dem Befund im Pfropfungsversuch (Schöniger und Bauer, 1955) für die Virosegruppe 2 charakteristisch sind, wird angenommen, daß diese Virose durch ein einziges nicht persistentes Virus verursacht wird.

Diskussion

Die nicht persistente Komponente aus der Sorte „Pillnitz" (Virosegruppe 5) und die aus der Sorte „Hochgenuß von Erfurt" und aus der Selektion 6 (Virosegruppen 3 stark, bzw. 2) isolierten Viren zeigen ± gute Übereinstimmung mit dem Virus 1 - strawberry mottle Virus der Engländer (Prentice und Harris, 1946), mit dem von Mellor und Fitzpatrick 1951 aus yellows-kranken Erdbeerpflanzen isolierten nicht persistenten Virus, sowie mit dem Virus 1 (Demaree und Marcus (Smith, 1952).

Beim englischen Virus 1 erhielten Prentice und Harris Übertragung nach einer Stunde Aufnahmezeit; die nächst kürzere Zeit war 5 Minuten mit negativem Erfolg, Zwischenzeiten wurden nicht geprüft. Als kürzeste Saugzeit auf den Indikatorpflanzen wird von den genannten Autoren 10 Minuten angegeben. Die Anfangssymptome traten nach 14 bis 21 Tagen auf. Die Indikatorpflanzen können verschieden starke Symptome zeigen. Starke Virus 1-Stämme stimmen bezüglich der Symptome durchaus mit dem von uns aus der Sorte „Hochgenuß von Erfurt" isolierten starken Virus-Stamm überein, wie wir uns in East Malling überzeugen konnten. Einer der beiden aus der Sorte „Pillnitz" isolierten Stämme gibt allerdings noch stärkere Symptome. Trotzdem kann dieses Virus auf Grund seines sonstigen Verhaltens genau wie das eben erwähnte aus der Sorte „Hochgenuß von Erfurt" als ein Stamm des Virus 1 — strawberry mottle Virus aufgefaßt werden.

Für das aus der Selektion 6 (Virosegruppe 2) isolierte Virus (möglicherweise auch für den schwachen Stamm aus den Sorten „Pillnitz" und „Hochgenuß von Erfurt") ist insofern eine gewisse Diskrepanz zu verzeichnen, als die Symptome zum Teil wesentlich früher, nämlich in den Analysenversuchen nach 7 bis 12 Tagen einsetzten. Im Hauptversuch allerdings setzten die Symptome dem englischen Virus 1 entsprechend nach 10 bis

21 Tagen ein. Der Hauptversuch war im März angesetzt worden, die Analysenversuche in der Zeit vom 21. Juli bis 13. August 1955. Beim Hauptversuch war die Temperatur im Gewächshaus im Tagesdurchschnitt ungefähr 5 ° C tiefer, die Tage kürzer und die Lichtstärke geringer; daher waren auch die Versuchspflanzen bei weitem nicht so wuchsfreudig wie später in den Analysenversuchen. Übrigens waren bei den Versuchen mit den Sorten „Pillnitz“ und „Hochgenuß von Erfurt“ die Unterschiede bezüglich der Jahreszeit, also auch bezüglich Temperatur, Tageslänge, Licht, zwischen Hauptversuchen einerseits und Analysenversuchen andererseits entsprechend, und doch zeigte sich hier bezüglich des Einsatzes der Primärsymptome kein Unterschied. Aus einer persönlichen Mitteilung POSNETTES/East Malling ist uns aber bekannt, daß man auch in England einen Virus 1-Stamm (x-strain) kennt, der bezüglich der Anfangssymptome ähnliches Verhalten zeigt wie das aus Selektion 6 isolierte Virus: Die Primärsymptome treten bei starkem Pflanzenwachstum besonders frühzeitig auf. Es wird also aller Wahrscheinlichkeit nach das aus der Selektion 6 isolierte Virus ebenfalls zu der (englischen) Virus-1-Gruppe gehören.

Zwischen dem von MELLOR und FITZPATRICK 1951 beschriebenen nicht persistenten Virus und den von uns isolierten nicht persistenten Viren zeigen sich gewisse deutliche Unterschiede. Als Mindestzeit für die Aufnahme auf dem Infektor geben die beiden Autoren drei Stunden an, bei uns 30 Minuten. Aus der in Frage kommenden Arbeit geht hervor, daß sogar bei sechs Stunden Aufnahmezeit die Übertragungsquote noch nicht besonders hoch war. Als Mindestsaugzeit auf den Indikatorpflanzen wird eine Stunde angegeben, bei uns 15 Minuten. Die Vektoren können 4¹/₂ Stunden infektiös bleiben, bei uns 2¹/₂ Stunden. Die Symptome treten nach zwei bis drei Wochen auf und können verschieden stark sein, was beides den Beobachtungen an unseren Versuchen entspricht. Die erstgenannten Unterschiede sind jedoch so beträchtlich, daß man erst nach weiteren entsprechenden Versuchen über die Stellung unserer Viren zu denen von MELLOR und FITZPATRICK genaueres sagen könnte.

SMITH gibt 1952 bei Übertragungsversuchen mit *Capitophorus fragariae* Theob. *(Pentatrichopus fragaefolii* CKLL.) für Virus 1/DEMAREE und MARCUS folgende Daten an: Drei Stunden Aufnahmezeit (kürzere Zeiten nicht geprüft), Infektion nach einer Stunde bzw. auch in der folgenden Übertragung von 23 Stunden Dauer, Anfangssymptome nach zehn Tagen. Die Symptome beschreibt SMITH nicht, doch entspricht Virus 1/DEMAREE und MARCUS in seiner schwachen Form dem aus Selektion 6 isolierten Virus (DEMAREE und MARCUS, 1951). Es ist anzunehmen, daß Virus 1/DEMAREE und MARCUS ebenfalls wie unsere Virus-Stämme zur Virus-1-Gruppe gehört.

Die Durchführung dieser Versuche wurde durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft ermöglicht, der an dieser Stelle für ihre Unterstützung bestens gedankt sei.

Zusammenfassung

Zunächst wird einiges über die Versuchspflanzen, die Arbeitsweise mit den Vektoren sowie über das Schema der Isolierung bzw. über die Analyse der Viren berichtet.

Im experimentellen Teil wird zunächst die Analyse der Virosegruppe 5 an Hand der Sorte „Pillnitz", und zwar speziell die Analyse der nicht persistenten Viruskomponente dargestellt. Weiter werden die Analysen der Virosegruppen 2 (bei Selektion 6) und 3 stark (bei der Sorte „Hochgenuß von Erfurt") beschrieben.

In der Diskussion werden die Ergebnisse mit entsprechenden Befunden anderer Autoren verglichen. Die nicht persistenten Viren der Sorten „Hochgenuß von Erfurt", „Pillnitz" und der Selektion 6, also der Virosegruppen 3 stark, 5 und 2 sind als Virus-1-Stämme aufzufassen.

Literaturverzeichnis

1. Demaree, J. B., and Marcus, C. P., 1951: Virus diseases of strawberries in the United States with special reference to distribution, indexing, and insect vectors in the East. Plant Disease Rep. **35**, 527—537.

2. Mellor, F. C., and Fitzpatrick, R. E., 1951: Studies of virus diseases of strawberries in British Columbia. II. The separation of the component viruses of yellows. Canad. J. Bot. **29**, 411—420.

3. Prentice, I. W., and Harris, R. V., 1946: Resolution of strawberry virus complexes by means of the aphis vector *Capitophorus fragariae* Theob. Ann. Appl. Biol. **33**, 50—53.

4. Schöniger, G., und Bauer, R., 1955: Erdbeervirosen in Deutschland. I. Befund nach Pfropfung verschiedener Sorten auf *Fragaria vesca* L. Phytopath. Z. **24**, 443—454.

5. Smith, H. E., 1952: Aphid transmission of strawberry viruses from commercial plants to *Fragaria vesca* L. (East Malling-clone). Phytopathology **42**, 20.

Aus dem Max-Planck-Institut für Züchtungsforschung, Köln-Vogelsang
Direktor: Prof. Dr. W. Rudorf

Rasse 4 von *Phytophthora infestans* als Feldrasse in Deutschland[1])

Von

N. O. Frandsen

Die in jüngster Zeit durchgeführten Analysen einer Anzahl Resistenzgene von *Solanum demissum* Lindl. haben zu der Aufstellung geeigneter Testsortimente für die Differenzierung von Rassen von *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary geführt (Black, Mastenbroek, Mills & Peterson 1953). Damit hat man ein Werkzeug in die Hand bekommen, das sich dazu benutzen läßt, Änderungen in der spontanen Verbreitung von *Phytophthora*-Rassen oder Rassengruppen zu untersuchen. Der Befund, daß die früheste Infektion der gewöhnlichen Kartoffelhandelssorten durch *Phytophthora infestans* in dem Zuchtgarten des Max-Planck-Institutes für Züchtungsforschung, Voldagsen, im Sommer 1955 durch die Rasse 4 und nicht, wie erwartet, durch Rasse 0 verursacht wurde, gab die Veranlassung, die Verbreitung der Rassen im Feldbestand im norddeutschen Gebiet näher zu analysieren.

Material und Methode

Die Untersuchung wurde im Juli und Anfang August 1955 durchgeführt. Die von den befallenen Blättern der Feldkollektionen hergestellten Zoosporenaufschwemmungen wurden im Schalentest mit abgetrennten Blättern auf folgendem von Black stammenden Testsortiment geprüft:

Resistenzgen R_1: Klon Nr. 835a (4)
Resistenzgen R_2: Klon Nr. 1512c (16)
Resistenzgen R_3: Klon Nr. 1253a (12) (Pentland Ace)
Resistenzgen R_4: Klon Nr. 1563c (14)
r : Erstling, später Allerfrüheste Gelbe

Außer den vom Institut gesammelten Proben wurden insgesamt 34 Herkünfte aus den verschiedensten Gegenden von Niedersachsen und Schleswig-Holstein geprüft, und zwar aus den Kreisen Braunschweig, Helmstedt, Gifhorn, Salzgitter, Hameln-Pyrmont, Neustadt, Soltau, Rotenburg, Land Hadeln und Angeln[2]).

---

[1]) Herrn Professor Dr. Wilhelm Rudorf zum 65. Geburtstage.

[2]) Ich danke den Herren Mitarbeitern des Pflanzenschutzamtes Hannover für die liebenswürdige Einsendung von befallenen Blattproben.

Ergebnis der Rassenanalyse

Von den 34 Feldeinsammlungen enthielten 33 die Rasse 4. Nur eine Herkunft enthielt die Rasse 1,4, aber keine einzige die Rasse 0 allein. Diese Ergebnisse schließen natürlich die Möglichkeit nicht aus, daß Rasse 0 neben den beiden anderen Rassen vorhanden sein könnte, denn sie ist die einzige, die sich nur in Abwesenheit der anderen Rassen auf dem Testsortiment manifestieren kann. Erst eine Testung vieler Einsporlinien je Herkunft würde Aufschluß darüber geben, ob Rasse 4 allein oder in Mischung mit Rasse 0 aufträte. Es wäre interessant, dieses Problem weiter zu verfolgen.

Eine Untersuchung von Klonen verschiedener Resistenztypen im Zuchtgarten des Institutes zeigte ferner, daß nach dem frühen Erscheinen von Rasse 4 nach und nach weiter spezialisierte Rassen auftraten, die in allen geprüften Fällen die durch das Resistenzgen R_4 bedingte Resistenz überwinden konnten. So wurden die Rassen 1, 2, 3, 1,2 und 1,3 nicht gefunden, wohl aber an ihrer Stelle die Rassen 1,4, 2,4, 3,4, 1,2,4 und 1,3,4. Dieses würde mit der Vorstellung gut im Einklang sein, daß die weiter spezialisierten Rassen sich im Laufe des Sommers aus der zuerst aufgetretenen Rasse 4 entwickelt haben. Bemerkenswert ist ferner, daß eine *Phytophthora*-Herkunft von der Wildtomate *Lycopersicon hirsutum* Humb. et Bonpl. var. *glabratum* Muller im Freiland sich ebenfalls als Rasse 4 herausstellte.

Die Feldresistenz und das Rassenproblem

Die Resistenzzüchtung interessiert die Frage, ob ein Rassenwechsel wie im vorliegendem Falle von Rasse 0 zu Rasse 4 Konsequenzen haben wird für die relative Feldresistenz, die in den letzten Jahren allgemein weiter in den Vordergrund des Interesses gerückt ist. Bisher liegt kein Anzeichen dafür vor, daß die relative Feldresistenz, die in sich ein komplizierter Begriff ist und auf anderer genetischer Grundlage beruht als die durch die R-Gene von *Solanum demissum* bedingte Überempfindlichkeitsresistenz, durch die biologische Spezialisierung durchkreuzt wird. Die besonders in Deutschland in dieser Hinsicht gemachten Erfahrungen von Schaper (1951) werden sehr eindrucksvoll durch die Beobachtungen von Niederhauser, Cervantes und Servin (1954) im Toluca-Tal in Mexiko unterstützt. In diesem Gebiet, das sich durch starkes Auftreten der meisten der mit dem jetzigen *Phytophthora*-Testsortiment erfaßbaren Rassen auszeichnet, hat die relative Feldresistenz sich bisher unabhängig von den vorhandenen Rassen behaupten können.

Daß die relative Feldresistenz durch die jetzt in Norddeutschland auftretende Rasse 4 nicht gefährdet wird, kommt beispielsweise sehr instruktiv zum Ausdruck an einem frühreifen Klon des Max-Planck-Institutes. Dieser auf Feldresistenz gezüchtete Klon, der sowohl hinsichtlich Ertrag als auch in bezug auf Qualitätseigenschaften absolut Sortencharakter besitzt, wird an sich von Rasse 4 befallen, zeigt aber dennoch im Feldbestand trotz unmittelbarer Nähe von stark befallenen Parzellen anderer Sorten eine ausgesprochene relative Feldresistenz. Dieses geht aus dem folgenden Vergleich mit anderen

frühen Sorten hervor (Bonitierungsskala von 0 bis 5: von keinem Befall bis zu sehr starkem Befall):

Sorte oder Klon	*Phytophthora*-Bonitur am				
	26. 7.	1. 8.	6. 8.	10. 8.	2. 9. 1955
Klon Nr. 49 536/13	0	0	0	0	0–1
Forelle	0–1	1–2	5	5	
Frühmölle	1	2–3	4–5	5	5
Comtessa*)	1–2	2–3	4–5	4	5
Barima	1–2	3	4–5	5	5
Sieglinde	1–2	3	5	5	
Erstling	2	4–5	5	5	
Corona	2–3	3–4	5	5	
Oberarnbacher Frühe	2–3	3–4	5	5	
Terena	3	4	5	5	
Sirtema	3	4	5	5	

*) Bei der Sorte Comtessa wurden Bonituren von zwei verschiedenen Standorten benutzt.

Diskussion

Das Resistenzgen R_4, das Black in Schottland, Mastenbroek in Holland und Mills und Peterson in den Vereinigten Staaten unabhängig voneinander analysiert haben, ist auch von anderer Seite bestätigt worden, so daß es keine Veranlassung gibt, an dem reellen Unterschied zwischen Rasse 0 und Rasse 4 zu zweifeln. Auch ist die Rasse 0 von mehreren Seiten in neuerer Zeit als Feldrasse festgestellt worden an Hand von Testsortimenten, die eine Verwechslung mit Rasse 4 ausschließen dürften. In Deutschland gibt Wriedt (1955) ein Feldisolat A als identisch mit der Rasse 0 an. Da in Europa wie auch in Amerika in der Praxis nur Sorten ohne R-Gene oder mit dem R_1-Gen angebaut werden (abgesehen von Ausnahmen, wie z. B. in Schottland die Sorte Pentland Ace mit dem R_3-Gen), hat man also jetzt bei *Phytophthora infestans* dieselbe Erscheinung gefunden, wie man sie von den Getreiderostrassen her kennt: einmal, daß eine Verdrängung einer Rasse durch eine andere im Laufe relativ kurzer Zeit über große Gebiete erfolgen kann, und zum anderen, daß ein solcher Rassenwechsel nicht unbedingt durch Selektion infolge des Anbaus von neuen Sorten mit anderen Resistenzeigenschaften verursacht zu sein braucht.

Die allgemeine Verbreitung der Rasse 4 als Feldrasse auf Kosten von Rasse 0 scheint sich in den letzten Jahren auch in anderen Ländern vollzogen zu haben. In Holland hat Mastenbroek (Mastenbroek & de Bruin 1955) im Zuchtgarten in Hoofddorp seit 1951 das Auftreten von Rassen auf reinen *Solanum tuberosum*-Sorten verfolgt. 1951 überwog bei weitem die Rasse 0 (die alte Feldrasse A); aber 1952 ist Rasse 4 schon dominierend, nur in einem Viertel der Fälle wurde Rasse 0 gefunden. 1954 wurde außer

Rasse 4 nur ein einziges Mal Rasse 1,4 festgestellt. 1953 und 1954 haben die beiden Verfasser Proben von gewöhnlichen Kartoffelfeldern aus verschiedenen Provinzen des Landes analysiert, die in allen Fällen nur Rasse 4 enthielten. In Herkünften aus verschiedenen Ländern: Schweden, Dänemark, der Schweiz, Portugal und Jordanien, fanden sie ebenfalls diese Rasse.

In Kanada hat Graham (1954, 1955) Feldisolate von Handelssorten ohne R-Gene aus zehn Provinzen analysiert und darin sowohl Rasse 4 als auch Rasse 0 gefunden. Graham gibt für einige seiner Herkünfte das Vorhandensein einer Mischung von Rasse 0 und 4 an. Seine Begründung hierfür, die er in der unterschiedlichen Sporulationsintensität auf den positiv reagierenden Testpflanzen sucht, ist jedoch nicht beweiskräftig. Auf Tomaten fand er dieselben beiden Rassen. In New Hampshire, USA, wurde nach Rich und Richards (1955) auf Tomaten am häufigsten ein *Phytophthora*-Stamm angetroffen, der auf dem Kartoffeltestsortiment als Rasse 4 reagierte. In Kolumbien fand de Rojas Peña (1953) in seinen Herkünften in einem Fall die Rasse 4 und in allen übrigen Fällen die Rasse 0 vor.

Die Erscheinung, daß sich die Rasse 4 in Konkurrenz mit Rasse 0 auf Kultursorten ohne Gene für Überempfindlichkeitsresistenz verbreitet hat, steht in Widerspruch zu der von Black (1952) und Mastenbroek (1952) geäußerten Vermutung, daß die an Wirtspflanzen mit R-Genen spezialisierten Rassen gegenüber reinen *S. tuberosum*-Sorten weniger virulent seien als die früher gewöhnliche Rasse 0. Black fand eine Stütze für diese Ansicht in seinen Konkurrenzversuchen mit einer Mischung von Rasse 0 und anderen Rassen. In diesen zeigten sich die höher spezialisierten, d. h. an mehrere R-Gene angepaßten Rassen weniger konkurrenzfähig als die weniger spezialisierten, wenn die sie selektierenden Resistenzgene nicht vorhanden waren. Thurston und Eide (1952, 1953) kamen in Konkurrenzversuchen mit den Rassen 0 und 1 zu einem entsprechenden Ergebnis. Die erwähnte Ansicht stimmte fernerhin gut überein mit den Ergebnissen aus früher vorgenommenen *Phytophthora*-Einsammlungen von gewöhnlichen Kultursorten in Deutschland (Lehmann 1938) und in England (Black & Haig 1947). In beiden Fällen wurde nur die Rasse A und niemals eine der übrigen auf den damaligen Testsortimenten unterscheidbaren Rassen gefunden.

Welche Ursachen den Rassenwechsel in dem vorliegenden Falle bewirkt haben mögen, ist unbekannt. Es existieren jedoch schon ein paar Hinweise auf Unterschiede in klimatischen und ernährungsphysiologischen Ansprüchen verschiedener *Phytophthora*-Isolate. Es ist durch eine Untersuchung von Martin (1949) gezeigt worden, daß zwischen *Phytophthora*-Stämmen aus dem Süden und aus dem Norden der Vereinigten Staaten Unterschiede in der Temperaturverträglichkeit bestehen. Ferner sind nach einer Untersuchung von French (1953) zwischen Isolaten der amerikanischen *Phytophthora*-Rassen A und B, d. h. der Rassen 0 und 4, Unterschiede in ihren ernährungsphysiologischen Ansprüchen festgestellt worden.

Um Mißverständnisse zu vermeiden, muß darauf aufmerksam gemacht werden, daß die durch die vier vorerst analysierten Überempfindlichkeitsgene

(die Existenz weiterer R-Gene wird von verschiedener Seite angedeutet) unterscheidbaren 16 Rassen nicht die ganze Rassendifferenzierung aufzeigen. Eine durch ihre Reaktion gegenüber den R-Genen von *S. demissum* definierte Rasse mag durch eine andere physiologische oder biologische Analyse in weitere Rassenkomponenten zerfallen. Zum Beispiel hat es sich gezeigt (WILSON 1954), daß die Rassendifferenzierung einer Anzahl Isolate auf einem Kartoffeltestsortiment mit ihrer Differenzierung auf einem Tomatentestsortiment durchaus nicht parallel ging. Isolate, die auf dem ersteren als eine bestimmte Rasse reagierten, zerfielen auf dem letzteren in unterscheidbare Rassen und vice versa. Die Rassendifferenzierung bleibt immer eine Frage der Empfindlichkeit des messenden Instruments; sie bezieht sich nur auf ein genau definiertes Testsortiment.

Es ist denkbar, daß die Kritik, die von verschiedenen Seiten (CASTRONOVO 1954, HOWATT & GRAINGER 1954, 1955) gegen die Haltbarkeit des internationalen Rassennomenklatursystems von BLACK, MASTENBROEK, MILLS und PETERSON (1953) laut geworden ist, zum Teil darauf beruhen könnte, daß auf seiten des Pilzes innerhalb dieser 16 Rassengruppen Unterschiede existieren, die sich auf seiten des Wirtes durch Unterschiede im Genmilieu oder in einzelnen Genen, verschieden von den R-Genen, manifestieren können. Sowohl der obengenannte argentinische als auch die beiden kanadischen Verfasser stellten Unterschiede in der Reaktion der Testklone Black 834c (29) bzw. Black 835a (4) auf der einen Seite und den Sorten Kennebec und Essex bzw. Essex allein auf der anderen Seite gegenüber einigen ihrer Isolate fest, obwohl alle genannten Klone und Sorten allgemein als R_1-Klone betrachtet werden. Eine andere Erklärungsmöglichkeit dieser Diskrepanz wäre die, daß die Überempfindlichkeitsgene der beiden Gruppen nicht identisch sind, aber daß der Unterschied zwischen ihnen nur durch Infektion mit bestimmten Pilzisolaten zum Ausdruck kommt, mit anderen Isolaten dagegen nicht. Die Resistenz von Essex stammt aus REDDICKS *S. demissum*-Kreuzungen, während die Resistenz von Kennebec auf MÜLLERS W-Rassen (und somit vermutlich auf eine andere *S. demissum*-Herkunft) zurückgeht. Beide Sorten wurden von PETERSON und MILLS (1953), Essex außerdem von BLACK und MASTENBROEK als resistent gegen die Rassen 0 und 4, aber anfällig für Rasse 1 angegeben. Nach holländischen Erfahrungen werden Kennebec und Essex trotz des R-Faktors als nur mäßig resistent angegeben im Gegensatz zu den weit besser beurteilten deutschen Sorten auf W-Rassen-Grundlage (HOGEN-ESCH & ZINGSTRA 1954).

Eine praktisch wichtige und theoretisch interessante Konsequenz des von BLACK, MASTENBROEK, MILLS und PETERSON aufgestellten Systems ist die, daß Resistenz gegen Rasse 0 gleichzeitig eine Resistenz gegen eine der höher spezialisierten Rassen voraussetzt. Es sollte keine Sorten geben, die für Rasse 0 anfällig und gleichzeitig gegen eine der übrigen Rassen resistent wären. Eine scheinbare Ausnahme von dieser Regel bietet eine Testklongruppe von LEHMANN (1938), die anfällig für seine Rasse 1 und resistent gegen seine Rasse 6 war, wenn, wie vermutet worden ist, die Rasse 1 von LEHMANN mit

der Rasse 0 der internationalen Nomenklatur identisch ist. Die Haltbarkeit dieser Vermutung ist jedoch nicht mehr nachprüfbar und deshalb zweifelhaft.

Neuerdings haben SCHICK, SCHICK und HANK (1954) in Mecklenburg einen ähnlichen Fall vermutet. Sie fanden einen *S. demissum*-Klon, der anfällig für ihre Rasse A, andererseits aber resistent gegen ihre Rasse B, G und E war. Sie schließen, daß, wenn die Rasse A tatsächlich der Rasse 0 entspricht, die von BLACK und von anderen gemachte Voraussetzung, daß Anfälligkeit für Rasse 0 gleichzeitig eine Anfälligkeit für die übrigen Rassen mitbedingt, nicht zutreffend ist. Ein Vergleich mit dem BLACKschen Sortiment wurde nicht durchgeführt. Das Ergebnis der Untersuchung über die Verbreitung von Rasse 4 in Norddeutschland läßt nun die von SCHICK et al. mit Vorbehalt geäußerte Voraussetzung in einem neuen Lichte erscheinen. Da die Rasse 4 jetzt allgemein in Niedersachsen und Schleswig-Holstein verbreitet ist, liegt die Vermutung sehr nahe, daß die betreffende Rasse vor 1953, als SCHICK et al. ihre Untersuchungen anstellten, als Feldrasse in Mecklenburg schon verbreitet gewesen sein könnte. Die Feldpopulation A aus Groß-Lüsewitz könnte also eventuell die Rasse 4 enthalten oder ganz aus ihr bestanden haben. Die von den Verfassern vermutete Diskrepanz in bezug auf das R-Gen-Nomenklaturschema von BLACK et al. ist somit nicht bewiesen und auch wenig plausibel.

Ein gleichfalls ungeklärtes Problem bietet das von ihnen vermutete Resistenzgen R_0. Aus der Sorte Sieglinde isolierten sie eine als 00 bezeichnete Rasse, die einen Teil der Pflanzen, die ihr vermutetes R_0-Gen enthielten und die für ihre Rasse A anfällig waren, nicht zu befallen vermochte. Vielleicht entsprechen von den Rassen von SCHICK et al. am ehesten ihre Rasse 00 der Rasse 0 und ihre Rasse A der Rasse 4 der internationalen Nomenklatur. Ihr Resistenzgen R_0 könnte dann mit R_1 identisch sein. Eine Entscheidung hierüber kann nur der Infektionsversuch auf einem authentischen Testsortiment treffen.

Zusammenfassung

1. Eine Analyse von Feldeinsammlungen der *Phytophthora infestans* von Kartoffelhandelssorten aus verschiedenen Gegenden von Niedersachsen und Schleswig-Holstein im Sommer 1955 ergab, daß die Rasse 4 jetzt allgemein verbreitet ist. Die Rasse 1,4 fand sich in einem von 34 Fällen. Die Rasse 0 wurde in keiner der Proben allein angetroffen.

2. Es wird gezeigt, daß in relativ kurzer Zeit eine Änderung in der Verbreitung einer *Phytophthora*-Rasse über große Gebiete hin erfolgen kann und daß solche Änderungen auch durch andere Ursachen bedingt sein können als durch den Anbau von Sorten mit anderen Resistenzeigenschaften.

3. Die relative Feldresistenz ist durch das allgemeine Auftreten von Rasse 4 anscheinend nicht beeinflußt worden.

4. Verschiedene Fragen bezüglich der Rassendifferenzierung und der internationalen Rassennomenklatur werden diskutiert.

Literaturverzeichnis

BLACK, W., 1952: A genetical basis for the classification of strains of *Phytophthora infestans.* Proceed. Roy. Soc. Edinburgh, Sect. B, **65**, 36—51.

— — & HAIG, J. G., 1947: Strains of potato blight in Scotland. Scott. J. Agric. 27, 49—50.

— —, MASTENBROEK, C., MILLS, W. R. & PETERSON, L. C., 1953: A proposal for an international nomenclature of races of *Phytophthora infestans* and of genes controlling immunity in *Solanum demissum* derivatives. Euphytica **2**, 173—179.

CASTRONOVO, A., 1954: Studies on the inheritance of resistance to *Phytophthora infestans* in potatoes. Amer. Potato J. **31**, 397—403.

FRENCH, A. M., 1953: Physiologic differences between two physiologic races of *Phytophthora infestans.* Phytopathology **43**, 513—516.

GRAHAM, K. M., 1954: Distribution of races of *Phytophthora infestans* in Canada. (Abstr.) Phytopathology **44**, 490.

— —, 1955: Distribution of physiological races of *Phytophthora infestans* (MONT.) DE BARY in Canada. Amer. Potato J. **32**, 277—282.

HOGEN-ESCH, J. A. & ZINGSTRA, H., 1954: Geniteurslijst voor aardappelrassen 1954. Commissie ter bevordering van het kweken en het onderzoek van nieuwe aardappelrassen. 128 pp. Wageningen.

HOWATT, J. L. & GRAINGER, P. N., 1954: Some new findings concerning *Phytophthora infestans.* (Abstr.) Amer. Potato J. **31**, 369—370.

— — & — —, 1955: Some new findings concerning *Phytophthora infestans* (MONT.) DE BY. Amer. Potato J. **32**, 180—188.

LEHMANN, H., 1938: Ein weiterer Beitrag zum Problem der physiologischen Spezialisierung von *Phytophthora infestans* DE BARY, dem Erreger der Krautfäule. Phytopath. Z. **11**, 121—154.

MARTIN, W. J., 1949: Strains of *Phytophthora infestans* capable of surviving high temperatures. (Abstr.) Phytopathology **39**, 14.

MASTENBROEK, C., 1952: Over de differentiatie van *Phytophthora infestans* (MONT.) DE BARY en de vererving van de resistentie van *Solanum demissum* LINDL. Proefschrift. 121 pp. Wageningen.

— — & DE BRUIN, T., 1955: Het vorkommen van physio 4 van *Phytophthora infestans* in Nederland. T. Plantenziekt. **61**, 88—92.

NIEDERHAUSER, J. S., CERVANTES, J. & SERVIN, L., 1954: Late blight in Mexico. Amer. Potato J. **31**, 233—237.

PETERSON, L. C. & MILLS, W. R., 1953: Resistance of some American potato varieties to the late blight of potatoes. Amer. Potato J. 30, 65—70.

RICH, A. E. & RICHARDS, 1955: A source of resistance to tomato late blight. (Abstr.) Phytopathology **45**, 186.

DE ROJAS PEÑA, E., 1953: El problema de las razas fisiológicas de *Phytophthora infestans* (MONT.) DE BARY, en el fitomejoramiento de la papa. Contribución a su estudio. Inform. Téc. Min. Agric. Bogotá **1**, 1—78. Ref.: Plant Breed. Abstr. **24**, 2173, 1954.

SCHAPER, P., 1951: Die Bedeutung der Inkubationszeit für die Züchtung krautfäuleresistenter Kartoffelsorten. Z. Pflanzenzücht. 30, 292—299.

SCHICK, R., SCHICK, E. & HANK, H., 1954: Einige Bemerkungen zu einer internationalen Nomenklatur der *Phytophthora*-Widerstandsfähigkeit kontrollierenden Gene der Kartoffel. Züchter **24**, 249—252.

THURSTON, H. D. & EIDE, C. J., 1952: The appearance and survival of new races of *Phytophthora infestans.* (Abstr.) Phytopathology **42**, 481—482.

— — & — —, 1953: The survival of races of *Phytophthora infestans.* (Abstr.) Phytopathology **43**, 486.

WILSON, J. B., 1954: The interrelationship of potato and tomato races of *Phytophthora infestans.* (Abstr.) Phytopathology **44**, 510—511.

WRIEDT, G., 1955: Ein Beitrag zur Aufstellung eines über Samen vermehrbaren Testsortimentes für *Phytophthora infestans* (MONT.) DE BARY. Z. Pflanzenzücht. **34**, 125—156.

Istituto di Botanica Speciale della Scuola Politecnica Federale Zurigo
Direttore: Prof. Dr. E. Gäumann

Ricerche colturali su alcune specie della famiglia delle *Massariaceae*[1])

Di

A. Tonolo[2])

Con 1 figura

I. Parte Generale

A. Introduzione storica

Il genere *Massaria* con la specie *Massaria inquinans* fu istituito nel 1844 da G. de Notaris (1).

Il genere, accettato dai Tulasne (2), viene per la prima volta raggruppato da Fuckel (3), assieme al genere *Enchnoa* Fries, nella famiglia delle *Massarieae.* Saccardo (4), nella Sylloge Fungorum, da le basi sistematiche generali del gruppo e descrive i generi:

Massaria de Not.; *Massarina* Sacc.; *Pleomassaria* Speg.; *Massariella* Speg. Winter (5) riporta, di nuovo, i generi precedenti nella famiglia delle *Massarieae* Fuck., disposizione seguita inoltre da De Jaczewski (6), in un lavore monografico, da Lindau (7) e da Rehm (8).

---

[1]) Ringrazio sentitamente il Prof. Dr. E. Gäumann per la cordiale ospitalità offertami nel Suo Istituto e per i vari suggerimenti datemi durante il lavoro. — Al Dr. E. Müller va la mia sincera riconoscenza per avermi iniziato a questi studi e per l'aiuto costante, assiduo e prezioso. — Desidero inoltre esprimere al Prof. Domenico Marotta, Direttore Generale dell'Istituto Superiore di Sanità ed al Prof. E. B. Chain, F. R. S. i miei più vivi ringraziamenti per avermi consentito di completare i miei studi al Politecnico Federale di Zurigo.

[2]) Attuale indirizzo: Centro internationale di Chimica Microbiologica — Istituto Superiore di Sanità, Roma, Italia.

Tutti gli autori che abbiamo precedentemente nominato ascrivono la famiglia delle *Massariaceae* all'ordine delle *Sphaeriales*.

In seguito però ai lavori fondamentali di NANNFELDT (9) la posizione sistematica della famiglia deve essere modificata.

Le *Massariaceae* presentano infatti una struttura molto simile agli Ascoloculari, per cui GÄUMANN (10) la ascrive alle *Pseudosphaeriales*, posizione sistematica seguita anche da MÜLLER (11) e da LUTTRELL (12). Questo ultimo autore propone inoltre di includere nella famiglia delle *Pleosporaceae* i generi *Leptosphaeria*, *Scleropella*, *Melanomma* e *Massaria* che presentano tutti un ascostroma simile ad un vero peritecio e uniloculato.

MUNK (13) ha recentemente pubblicato un lavoro critico della intera famiglia e trova come questa sia molto eterogenea, senza però dare un carattere definitivo al suo lavoro.

Infine, in base alla creazione della nuova sottoclasse degli ascomiceti (*Loculoascomiceti*), la famiglia delle *Massariaceae* dovrebbe ascriversi al nuovo ordine delle *Pleosporales* (14).

B. Scopo del Lavoro

La classificazione dei Pirenomiceti è in generale molto difficile e non si può basare esclusivamente sui caratteri morfologici e biometrici delle forme naturali.

Il SIMMONS (15) ha esposto molto chiaramente le difficoltà del lavoro sistematico inteso nel senso classico della parola ed insiste di eseguire parallelemente delle accurate ricerche in coltura pura. DODGE (16) è dello stesso parere e riporta i lavori fondamentali di WHETZEL sulla differenziazione in coltura pura di diversi specie di *Sclerotinia*.

Lo stesso si può dire per il genere *Penicillium* al quale, in seguito ai lavori di THOM e RAPER, appartengono solo 142 specie sicure invece delle 750 precedentemente descritte da diversi autori.

Anche MÜLLER (17) insiste su questa necessità e aggiunge che una naturale e stabile classificazione si basa prevalentemente sul ciclo di sviluppo e sulle relazioni tra forme perfette ed imperfette di una data specie.

Nel nostro lavoro abbiamo cercato quindi di chiarire i seguenti punti:

1. Studiare la morfologia in coltura pura di alcune specie della Famiglia delle *Massariaceae*.
2. Studiare le eventuali variazioni di ceppi appartenenti alla stessa specie ma provenienti da matrici o luoghi diversi.
3. Ciclo di sviluppo in coltura pura.
4. Relazioni morfologiche tra generi diversi della stessa Famiglia.

C. Tecniche e Metodi

Le *Massariaceae* crescono in natura sotto la corteccia di rami morti appartenenti a diverse specie arboree (*Fagus*, *Fraxinus*, *Betula*, *Acer* etc.).

Il materiale è stato raccolto per la maggior parte nei boschi circondanti Zurigo e a Völkenrode (Braunschweig, Deutschland) dallo inizio di Marzo alla fine di Maggio.

Le specie di questa Famiglia si sviluppano in tutti i periodi dell'anno, come abbiamo anche potuto constatare dalle date degli „exicata" presenti nell'erbario di questo Istituto.

Il materiale raccolto veniva esaminato in laboratorio eseguendo delle sezioni a mano e osservando i preparati in acqua distillata o in lattofenolo.

Le misure delle dimensioni degli ascospore e degli aschi sono sempre state eseguite in lattofenolo di Amann.

Le colture sono state eseguite per isolamento monoascosporico. Abbiamo seguito il metodo di Müller (18):

Piccoli pezzi di corteccia contenenti gli ascostromi venivano immersì per 10′—15′ in acqua distillata sterile.

Successivamente si attaccavano, con un po' di vaselina, alla parete inferiore del tappo di cotone che chiude l'imboccatura di una beuta da 100—200 cc e contenente 20—30 cc di agar malto.

Le ascospore, espulse dall'asco, cadono sulla superficie dell'agar e germinando originano diverse colonie in stato di assoluta purezza.

L'isolamento veniva poi eseguito in provette a becco di clarino contenenti lo stesso agar nutritivo.

L'agar nutritivo adoperato aveva la seguente composizione:

Estratto di malto: g. 30 — agar: g. 20 — acqua distillata: cc. 1000 — pH. 6,0.

Le colture venivano tenute a temperatura ambiente che era di circa 18—22 ^{0} C. Inoltre esse erano soggette alla luce ambientale.

II. Parte Speciale

A. Risultati

1. Genere *Massaria* de Not.

a) *Massaria inquinans* (Tode) Winter — Ascomyceten in Rabenhorst's Kryptogamenflora, **1** (2) (1887).

Sinonimi: *Sphaeria inquinans* Tode — Fungi Mecklemb. **2**, p. 17 (1790).
Variolaria elipsosperma Bull. — Histoire Champ. **1**, p. 183, taf. 492, fig. 3 (1791).
Sphaeria gigaspora Desmaz — Cryptog. d. France, Ed. II, No. 1763 (1836).
Massaria gigaspora Ces. et de Not. — Schema Sferiac. p. 43 (1863).
Massaria bulliardi Tul. — Selec. Fung. Carp. **2**, p. 236 (1863).
Massaria vomitoria Berk. et Curt. — Cfr. Sacc. Syll. **2**, p. 9 (1883).

Genere tipo: *Massaria inquinans* (Tode) Winter.
Famiglia tipo: *Massaria inquinans* (Tode) Winter.

Il materiale esaminato è stato raccolto dal Dr. E. Müller il 21. 4. 1949 a Zürich su rami morti di *Cornus sanguinea* L.

Gli ascostromi, di colore bruno-scuro, sono coperti dalla corteccia e si trovano generalmente raggruppati. Misurano da 500 a 1000 μ. Gli aschi grandi, pedicellati, allungati-ovali, misurano 250—300 × 50—60 μ.

Le spore tetracellulari, ovoidali, brune, misurano 85—100 × 20—25 μ. In quesa specie, come nella *Massaria argus*, i setti trasversali si originano direttamente dalla membrana esterna. Il primo setto è sempre quello centrale (fig. 1, a).

Le colonie sono visibili e distinte dopo 7—8 giorni di sviluppo. All'inizio sono senza micelio aereo e di colore bruno pallido. La crescita della colonia non è regolare o rotondeggiante ma stellare o spiniforme. Alla maturità le colonie sono peró rotondeggianti a margini continui, senza solchi radiali.

Il micelio sommerso è settato, con spazi intercellulari disuguali, di colore bruno-scuro, generalmente „clamidosposico", con caratteristiche forme a tibia.

Il micelio aereo è di colore grigio-verde e si origina dopo circa 10 giorni di cultura.

Quando le colonie hanno raggiunto una età di circa 15—20 giorni si osserva la presenza di numerosi picnidi distribuiti disordinatamente nell'interno dell'agar. Sono di colore bruno scuro, rotondeggianti o ovali, senza ostiolo, di dimensioni variabili da 50 a 200 μ. Le cellule delle pareti sono poligonali, di 4—6 μ di lato. I conidi jalini, biguttulati, misurano 5—6 × 1—2 μ.

Si originano direttamente dallo strato fertile del picnidio si che la forma picnidica si ascrive al genere *Phoma* Fr.

Il TULASNE nella Selec. Fung. Carp. II, p. 236 descrive delle forme picnidiche molto simili a quelle da noi osservate in coltura.

b) *Massaria loricata* Tul.-Selec. Fung. Carp. 2, p. 230 (1863).

Sinonimi: *Massaria inquinans* de Not. — Att. Congr. Mil. (1844).
Massaria fagi Fuckel — Symbolae mycol. 1, p. 14 (1869).
Massaria foedans Fr. *f. faginae* Sacc. — Mich. 1, p. 40 (1887).

E' stata trovata il 5/4/1955 a Wädenswil (Zürich) su rami morti di *Fagus silvatica* L.

Gli ascostromi sono raggruppati e coperti dalla corteccia. Gli aschi sono molto grossi, pedicellati, leggermente ovali con otto spore. Misurano 160—180 × 30—40 μ.

Le spore sono ovali, tricellulari, brune con presenza di numerose fibrille che prendono origine dalla parete esterna. Le spore giovani hanno una sola membrana trasversale che si origina dalla parete esterna e che divide l'ascospora in due parti disuguali. La seconda membrana si origina dall'endosporio. Le colonie hanno un accrescimento molto lento; dopo 15—20 giorni di coltura raggiungono un diametro di 15—20 mm. Il micelio sommerso di colore bruno-scuro presenta numerosi ingrossamenti ifali (Clamidospore).

Le dimensioni di tali formazioni sono molto variabili, da 3—4 μ a 7—10 μ.

Il micelio aereo é di colore rosa, biancastro in alcune colonie, con ife molto sottili, filiformi, di circa 2 μ di diametro. Non abbiamo mai osservate forme di fruttificazione.

c) *Massaria argus* (Berk. et Br.) Tul.-Selec. Fung. Carp. 2, p. 227 (1863).

Sinonimi: *Sphaeria melasperma* Fries — Systema **2**, p. 389 (1821).
Sphaeria argus Berk. et Br. — Not. Brit. Fungy (1860).
Massaria niessleana Rehm — Hedw. **21**, 84 (1882).

Trovata su rami morti di *Betula alba* L. a Völkenrode (Braunschweig-Deutschland) il 15/4/1955.

Gli ascostromi hanno dimensioni variabili da 500 a 1000 μ; si trovano generalmente raggruppati sotto la corteccia che attraversano con un breve ostiolo quanto raggiungono la maturità. Gli aschi sono cilindrici, lunghi 200—230 μ e larghi 38—43 μ. Le spore sono cilindriche-allungate, divise in modo ineguale in due parti. La parte superiore é formata da quattro cellule, raramente da tre, ed é generalmente la più grande (fig. 1, d).

La inferiore é costituita da tre cellule. Misurano 45—65 × 18—21 μ. La formazione dei setti avviene in tre stadi. Nel primo si ha la formazione della membrana centrale primaria che divide l'ascospora in due parti disuguali. Essa si origina dalla membrana esterna (fig. 1, b).

Successivamente si formano, sempre dalla membrana esterna, tre membrane nella cellula superiore e due nella cellula inferiore. Successivamente si ha il distacco della membrana interna per ogni cellula così formata, mentre le membrane primarie si ispessiscono per un deposito di materiale bruno (fig. 1, c).

Le colonie raggiungono un diametro massimo di 20—25 mm in 10—15 giorni di sviluppo a temperatura ambiente.

Le colonie hanno margini continui, non presentano solchi radiali, il micelio sommerso é di colore bruno-scuro, il micelio aereo, sempre presente ed abbondante, é di colore verde-grigio.

Dopo 10—12 giorni di coltura si osserva la presenza di numerosi picnidi che si trovano alla superficie dell'agar, ossia sotto il micelio aereo, o immersi nell'agar.

Sono di colore bruno scuro, rotondeggianti, di dimensioni variabili da 50 a 300 μ, senza ostiolo. Le pareti sono formate da cellule poligonali di 5—7 μ di lato.

I conidi, jalini, ovali o leggermente rotondeggianti, non sono portati da nessun ramo conidioforo, nascono gioé dallo strato fertile del picnidio e si possono quindi ascrivere al genere *Phoma* Fr.

I conidi misurano 3—5 × 1 μ.

Saccardo nella Sylloge II, p. 7, Tulasne nella Selec. Fung. Carp. e F. v. Höhnel (19) riportano lo stato picnidico di questa specie alla *Hendersonia polycistis* Berk et Br. (*Myxociclus confluens* Fres.).

2. Genere *Stigmatomassaria* Munk

a) *Stigmatomassaria pupula* (Fires) Munk — Dansk Bot. Arkiv. **15**, Nr. 2 (1953).

Sinonimi: *Hercospora pupula* Fries — Summ. Veg. Scan., p. 397 (1821).
Sphaeria pupula Fries — Scleromyc. Suec. **2**, p. 484 (1834).
Massaria pixidata (Riess) Fresenius — Beitr. z. Mycol., p. 61 (1850).
Massaria pupula (Fries) Tul. — Selec. Fung. Carp. **2**, p. 225 (1863).

E' stata trovata il 25. 4. 1955 a Wädenswil (Zürich) su rami morti di *Fagus silvatica* L.

Gli ascostromi di colore bruno-scuro sono coperti dalla epidermide durante tutto il loro periodo di sviluppo.

La papilla non è però bene differenziata.

Gli aschi sono molto grandi, ovali-allungati, pedicellati, misurano 200—240 × 35—50 μ.

Le spore biseriate, tetracellulari, di colore bruno-scuro, assimmetriche, presentano la membrana esterna finemente punteggiata. Inoltre numerose ciglia o fibrille si dipartono dai setti trasversali e si congiungono alla parete esterna della mucosa che avvolge la spora. Una fibrilla più grossa si diparte sempre dal setta centrale. Queste formazioni si colorano bene con in coloranti tipici delle ciglia dei bacteri. Si nota pure la presenza di due papille o pori alle estremità delle ascospora (fig. 1, m).

La formazione delle membrane o setti avviene in questa specie nel seguente modo:

1. La membrana interna con una introflessione divide la spora giovane in due parti. Non si ha cioè all'inizio la formazione di nessuna membrana ma solo la divisione della spora in due parti (fig. 1, h).
2. Le due cellule così formate si introflettano alle loro rispettive metà e formano due cellule comunicanti (fig. 1, g).
3. Si forma la membrana centrale dalla parete esterna della spora (fig. 1, g).
4. Si formano due membrane a livello di ogni strozzamento della membrana interna (fig. 1, m).
5. Ispessimento di tutte le membrane con depositi di colore bruno.

La crescita delle colonie in coltura pura è molto lenta. Raggiungono un diametro di 15—20 mm dopo 10—20 giorni di sviluppo a temperatura ambiente.

Il micelio sommerso è di un colore bruno-scuro. Presentaife settate, di 4—5 μ di diametro, variamente ramificate. Micelio aereo scarso, biance-grigio.

Dopo circa 12—15 giorni di coltura si osserva la presenza di numerosi conidi ammassati in acervuli che si possono ascrivere al genere *Prosthemium* Kunze. Hanno dimensioni variabili da 45 a 20 × 10 — 20 μ. I conidi sono di colore bruno, variamente settati, con appendici ifali laterali, che si originano dal prolungamento diretto della membrana interna del conidio (fig. 1, n).

Si originano da un ingrossamento apicale di una ifa vegetativa, che si setta e contemporaneamente si ingrossa. Le divisioni longitudinali sono sempre secondarie a quelle trasversali che sono primarie.

La forma conidica osservata è molto simile a quella descritta per la *Pleomassaria siparia* e quindi ci sembra che la nuova denominazione di Munk sia da accettare completamente.

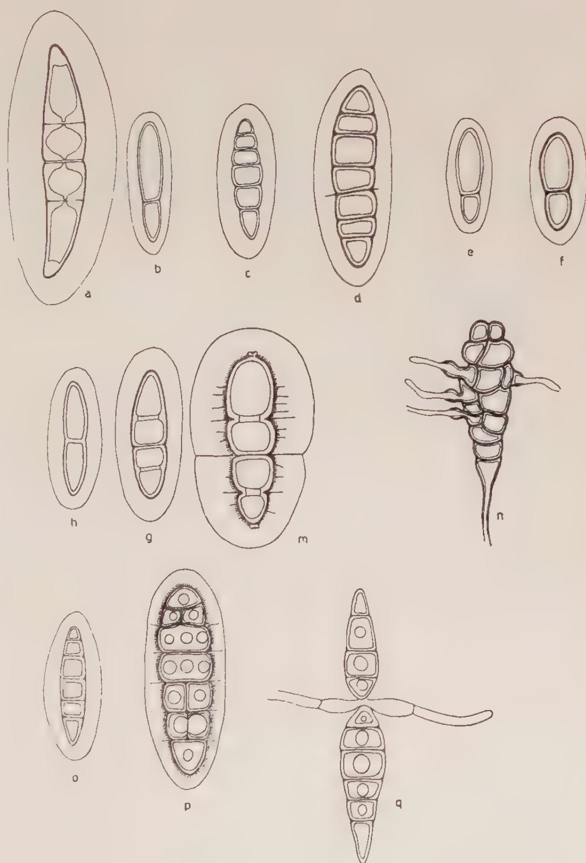


Fig. 1.

a) *Massaria inquinans:* ascospora matura. Sone ben visibili i setti che si dipartono dalla membrana esterna.

b—d) *Massaria argus:* b) ascospora al primo stadio di sviluppo con un solo setto centrale; c) ascospora con i diversi setti gia formati; d) ascospora matura.

e—f) *Massariella curreyi:* ascospore in due successivi stadi di sviluppo.

h—m) *Stigmatomassaria pupula:* h) ascospora al primo stadio di sviluppo: si separa solo la membrana interna; g) ascospora al secondo stadio: si forma il setto centrale dalla membrana esterna; m) ascospora matura: ciglia e fibrille si dipartono dall'esosporio.

n) Conidio di *Prosthemium* ottenuto in coltura pura da ascospore di *Stigmatomassaria pupula.*

o—p) Ascospore di *Pleomassaria siparia:* i setti si originano dalla membrana esterna. Ciglia e fibrille sull'esosporio.

q) Conidio di *Prosthemium betulium* ottenuto in coltura pura da ascospore di *Pleomassaria siparia.*

Infatti i caratteri simili dell'episporio si riscontrano anche in questa ultima specie, che, in coltura pura, produce conidi molto simili alla *Stigmatomassaria pupula*, conidi che d'altra parte si ritrovano anche in natura.

La forma conidica della *Stigmatomassaria pupula* si ascrive allo *Steganosporium pyriforme* Corda.

I caratteri dei conidi ottenuti in coltura pura non si possono però avvicinare a questo genere essendo, come abbiamo detto, simili ai conidi di *Prosthemium* Kunze, sebbene in questo caso si abbia la mancanza di picnidi.

3. Genere *Pleomassaria* Speg.

a) *Pleomassaria siparia* (Berk. et Br.) Winter — Ascomyceten, in Rabenhorsts Kryptogamenflora, 1 (2) (1887).

Sinonimi: *Sphaeria siparia* Berk. et Br. — Notic. of Brit. Fungi No. 625 (1852).
Massaria siparia Ces. et de Not. — Schema Sferiacee it. (1863).
Massaria siparia Tul. — Selec. Fung. Carp. 2, p. 232 (1863).

E' stata trovata su rami morti di *Betula alba* L. a Völkenrode (Braunschweig, Deutschland), il 15. 4. 1955.

Gli ascostromi sono generalmente sparsi, non raggruppati sotto la corteccia, sempre coperti dalla epidermide che attraversano con un piccolo ostiolo.

Aschi ovali molto grossi, con otto spore, misurano 190—230 × 38—44 μ. Ascospore di colore bruno chiaro, con 7—8 pareti trasversali e 2—3 setti longitudinali.

L'episporio è finemente punteggiato e piccole ciglia di dipartono dai setti trasversali (fig. 1 o, p).

Raggiungono dimensioni variabili: 56—68 × 14—18 μ.

Le colonie in coltura pura si sviluppano rapidamente e raggiungono un diametro di 15—20 mm in 8—10 giorni.

Il micelio vegetativo è di colore bruno-scuro con ife variamente settatte che raggiungono uno spessore di 3—5 μ.

Il micelio aereo molto abbondante è di colore verde.

Dopo 10—20 giorni di sviluppo a temperatura ambiente si nota la presenza di numerosi acervuli di colore bruno-scuro che contengono dei conidi appartenenti al *Prosthemium betulinum* Kunze (fig. 1 q).

I conidi in coltura pura hanno dimensioni uguali a quelli che si trovano in natura.

I conidi si originano direttamente dalla ife, non si ha cioè la presenza di un picnidio.

Le dimensioni sono di 30—50 × 10—15 μ.

Il numero dei setti per ogni cellula varia da tre a cinque. Generalmente la forma dei conidi è costante. Ad una cellula più grande si contrappone una più piccola. Talvolta si hanno delle forme raggiate a stella e raramente delle forme con una sola cellula principale.

I conidi si originano da un ingrossamento apicale di una ifa. I setti si originano dalla parete esterna e ogni singola cellula così formata contiene una goccia di olio.

Questo è l'unico caso da noi osservato che la forma conidica ottenuta in coltura pura corrisponda a quella presente in natura.

4. Genere *Massariella* Speg.

a) *Massariella curreyi* (Aul.) Sacc. **1**, 717 (1882).

Sinonimi: *Massaria curreyi* Tul. — Selec. Fung. Carp. **2**, p. 231 (1863).
Sphaeria tiliae Currey — in Transact. Linn. Soc. Lon. **22**, pars. I. p. 326 (1859).
E' stata trovata nel giardino del Kantonsspital di Zürich su rami putrescenti di *Tilia argentea* Desf., il 27. 6. 1955.

Ascostromi sparsi, coperti dalla corteccia la quale si presenta leggermente mammellonata in corrispondenza del corpo fruttifero. Sono di colore bruno-scuro, quasi nero e misurano circa $^1/_2$ mm di diametro.

Gli aschi lunghi, pedicellati, misurano 150—200 × 25—30 μ. Le spore sono generalmente in una sola fila, di colore bruno, allungate-ovali, con un sollo setto che si origina dalla parete esterna della cellula inferiore (fig. 1 e, f).

Le colonie si sviluppano abbastanza rapidamentee possono raggiungere un diametro di 15—20 mm dopo 10—15 giorni di sviluppo.

Il micelio vegetativo è di un colore bruno-scuro, il micelio aereo di colore verde come quello della *Pleomassaria siparia*. Dopo circa 10—15 giorni di sviluppo si oserva la presenza di numerosi picnidi che si sviluppano alla superficie dell'agar. Hanno delle dimensioni di 100—300 × 60—100 μ.

Sono prevalentemente ovali, con ostiolo ben distinto e le pareti sono costituite da cellule poligonali di 4—6 μ di lato. I conidi numerosi ed jalini, unicellulari, hanno delle dimensioni di 2—4 × 1 μ.

La forma picnidia si può ascrivere al genere *Phoma*. Fr. *Tulasne* (l. c.) descrive délle forme picnidiche, però la „stilospore" da egli disegnate sono completamente diverse da quelle da noi osservate.

B. Conclusioni e Discussioni

Le osservazioni che abbiamo eseguito si possono riassumere come segue:

	Micelio vegetativo	Micelio aereo	Forma di riprod. in coltura pura.
Massaria inquinans	rosso-bruno	verde grigio	*Phoma*
Massaria loricata	rosso-bruno	bianco-rosa	sterile
Massaria argus	bruno	verde-grigio	*Phoma*
Stigmatomassaria pupula	rosso-bruno	verde-grigio	*Prosthemium*
Pleomassaria siparia	rosso-scuro	verde	*Prosthemium*
Massariella curreyi	rosso-scuro	verde	*Phoma*

Le specie da noi studiate si potrebbero raggruppare in due classi:

la prima potrebbe comprendere la *Massaria inquinans*, la *Massaria argus* e la *Massariella curreyi* che hanno spore con veri setti e le cui forme imperfette sono da scriversi ad un solo tipo di picnidi appartenenti al genere *Phoma* Fr.

La seconda classe comprende la *Stigmatomassaria pupula* e la *Pleomassaria siparia* che hanno delle forme di fruttificazioni molto simili e riportabili per ambedue al genere *Prosthemium* Kunze.

La *Massaria loricata* è un tipo un po' a parte poichè presenta nessuna forma di fruttificazione in coltura pura.

Questi risultati pongono cioè il problema se le specie, così raggruppate, si possano ascrivere ad una stessa Famiglia o se ulteriori ricerche possano invece portare ad una più precisa distinzione.

Le forme che abbiamo ottenuto in coltura pura si ripetono costantemente anche quando l'isolamento si esegue da matrici o luoghi diversi.

Le uniche deboli differenze che si possono talvolta osservare consistono nella maggiore o minore abbondanza del micelio aereo. Abbiamo avuto indubbiamente alcune sopprese nello studio della morfologia in coltura pura.

Prima di tutto non abbiamo mai ottenuto le forme sessuate. In secondo luogo le forme assessuate trovate non corrispandono, tranne che per *Pleomassaria siparia,* alle forme descritte in letteratura. Non sappiamo se questo sia dovuto a fattori nutrizionali, ossia alla incapacità di formare le proprie forme agamiche in substrati nutritivi artificiali, o perchè le forme descritte da autori precedenti non corrispondono al vero stato agamico della specie.

Ci sembra la seconda ipotesi più probabile, per i seguenti motivi:

1. Lo stato conidico della Pleomassaria siparia si ritrova esattamente in coltura come in natura.
2. Lo stato conidico della *Stigmatomassaria pupula* è uguale a quello della *Pleomassaria siparia,* similitudine che esattamente corrisponde alla ravvicinanza che ne aveva fatto MUNK (l. c.) in base ai soli caratteri morfologici delle ascospore.

Il ciclo di sviluppo in coltura pura non si differenzia sensibilmente tra le diverse specie.

Le colonie all'inizio presentano un colore bruno-pallido, che in 7—10 giorni di sviluppo prendono il loro colore tipico che abbiamo precedentemente descritto. I picnidi si formano a tempi diversi e una caratteristica è la disposizione che puó essere superficiale o sommersa nell'agar *(Massaria inquinans).*

A nostro avviso una parcitolarità importante è l'origine dei setti delle spore.

Questi si possono originare tutti dalla membrana esterna come per la *Massaria inquinans* e la *Massaria argus;* oppure alcuni possono originarsi da una introflessione della membrana interna o endosporio *(Stigmatomassaria pupula).*

La presenza delle fibrille dell'esosporio è pure un ottimo carattere diagnostico: la permesso il riavvicinamento della *Stigmatomassaria pupula* alla *Pleomassaria siparia* alle quali noi vorremmo anche avvicinare la *Massaria loricata* che presenta numerose fibrille nell'esosporio.

Inoltre tutte le specie presentano in agar-malto un intenso odore di alcool. Non abbiamo studiato le proprietà nutrizionali che ci avrebbero indubbiamente aiutato a raggruppare con maggiore precisione le varie specie.

Possiamo solo dire che le Massariaceae non crescono in terreni completamente sintetici: la conclusione molto ovvia è che abbisognano di alcuni fattori nutrizionali di crescita ancora ignoti.

III.

Riassunto

Sono state isolate e studiate in coltura pura alcune specie della Famiglia delle *Massariaceae.* Viene descritto il ciclo di sviluppo in coltura pura. Si propone di raggruppare le specie in due gruppi: in base alla struttura delle ascospore ed alle forma di moltiplicazione agamica.

Il primo gruppo contiene la *Massaria inquinans,* la *Massaria argus* e la *Massariella curreyi.*

Il secondo gruppo la *Stigmatomassaria pupula* e la *Pleomassaria siparia.*

Zusammenfassung

Einige Arten aus der Ascomycetenfamilie der *Massariaceae* wurden isoliert und in Reinkultur untersucht, wobei in erster Linie auf die Bildung ihrer Nebenfruchtformen geachtet wurde. Gleichzeitig wurde auch bei den verschiedenen, in die Untersuchung einbezogenen Arten die Entwicklung ihrer Ascosporen auf Grund verschiedener Reifestadien verfolgt. Auf Grund der Ergebnisse lassen sich die untersuchten Arten in zwei Gruppen gliedern:

1. *Massaria inquinans, Massaria argus* und *Massariella Curreyi* bilden Nebenfruchtformen vom Typus *Phoma* Fr. Nach der Entwicklung ihrer Ascosporen gehört auch *Massaria loricata* in diese Gruppe; bei ihr wird aber in Reinkultur keine Nebenfruchtform ausgebildet.

2. *Stigmatomassaria pupula* und *Pleomassaria siparia* bilden Nebenfruchtformen vom Typus *Prosthemium* Kunze. Beide Arten stimmen auch in der Entwicklung ihrer Ascosporen miteinander überein.

Bibliografia

1. de Notaris, G., 1844: Cenno alla Tribù de' Pirenomiceti Sferiacei. Firence — Società Tipografica.
2. Tulasne, L. R., 1863—1865: *Selecta Fungorum Carpologia,* 1—3.
3. Fuckel, L., 1869: *Symbolae Mycologicae.*
4. Saccardo, P. A., 1882: *Sylloge fungorum.* Padova 1, 2.
5. Winter, G., 1887: Ascomyceten II in Rabenhorsts Kryptogamenflora, 1 (2).
6. de Jaczewskii, A., 1894: Monographie des Massariées de la Suisse. Bull. Herb. Boissier. 2.

7. Lindau, G., — in Engler, A., 1897: Die natürlichen Pflanzenfamilien. I. Teil, Abt. 1.
8. Rehm, H., 1906: Zum Studium der Pyrenomyceten in Deutschland, Deutsch. Österreich und der Schweiz. Annales Mycologici, **4**, 268—271; 395—403.
9. Nannfeldt, J. A., 1932: Studien über die Morphologie und Systematik der nichtlichenisierten inoperculaten Discomyceten. Nova Acta Regiae Soc. Scien. Upsaliensis Ser. IV. **8**, 1—368.
10. Gäumann, E., 1949: Die Pilze. Basel.
11. Müller, E. und von Arx, J. A., 1950: Einige Aspekte zur Systematik pseudosphärialer Ascomyceten. Ber. Schweiz. Bot. Ges. **60**, 329—397.
12. Luttrell, E. S., 1951: Taxonomy of the Pyrenomycetes. Univ. Missouri Studies **24** (3), 1—120.
13. Munk, A., 1953: The system of the Pyrenomycetes. Dansk. Bot. Ariv. **15**, 7—163.
14. Luttrell, E. S., 1955: The ascostromatic Ascomycetes. Mycologia, **47**, 511—532.
15. Simmons, E. G., 1952: Culture studies in the genera *Pleospora, Clathrospora* and *Leptosphaeria*, Mycologia **44**, 330—365.
16. Dodge, B. O., 1952: The fungi come into their own, Mycologia **44**, 273—291.
17. Müller, E.: Kulturversuche mit Ascomyceten I, Sydowia **7**, 325—334.
18. — —: Comunicazione personale.
19. von Höhnel, F., 1917: Sitzber. K. Akad. Wiss. Wien, Mathem.-Naturw. Klasse; Bd. CXXII, 1. Abt., 1041.

Institute of Agriculture, the Hungarian Academy of Sciences, Martonvásár (Hungary)
Institute of Agriculture, Kompolt/Hungary

Contributions to the hypersensitive reaction of wheat to loose smut (*Ustilago tritici* [Pers.] *Rostr.*) infection

By

Z. KIRÁLY and J. LELLEY

With 1 figure

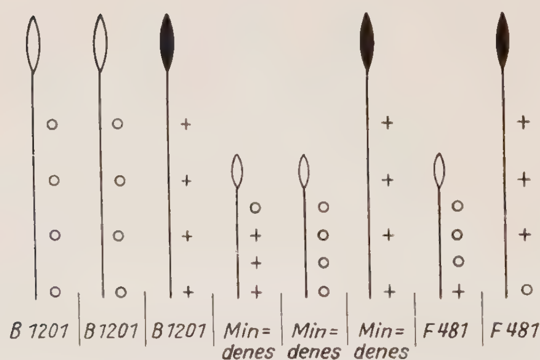
The causal organism of the loose smut of wheat does not incite any apparent responsive reaction, when through "intra uterine"-transmission it enters from the infected parent-plant (from flowering wheat) into the progeny (embryo). It originates only a normergic defence reaction which weakens and localizes the pathogen. This is the normal consequence of every infection (1,). This reaction cannot impede, however, the outbreak of the disease, since it is unable to kill the pathogen, but can only confine it locally for a certain time. Between the two organisms — the wheat and the loose smut — it originates herefrom a particular kind of symbiosis, to which GÄUMANN gave the name of an eusymbiontic relationship (1). In this symbiosis the parasite finally attains a predominant position and the plant will be diseased.

Such is the customary, well-known case of the loose smut disease of the wheat. A defence reaction of another kind was, however, recently described by OORT (2). From the interaction between a specific smut biotype and a specific host variety a parasite-host relation may result, in which evidently no eusymbiosis will exist, since the host plant, the wheat, exhibits disease symptoms already at the beginning of its development and throughout its whole life-cycle: the plant will be stunted, of a poor tillering, but if it is not killed, it will nevertheless escape the disease. In this case instead of smutty heads it will produce healthy ones and give healthy seeds. OORT and GÄUMANN suppose that in such a case the pathogen will be destroyed precisely in consequence of the hypersensitivity of the wheat. This is a hyperergic response to the infection. This host-parasite relation by GÄUMANN is called parabiontic.

It is merely a logical hypothesis in this case, that the pathogen is actually destroyed by the hyperergic reaction, since a success or elimination

of infection was not established by demonstrating the existence of the pathogen in host tissues, but only by the outbreak of disease (appearance of smutty heads). The depressed (hypersensitive) plants, heads being free of loose smut, were not qualified as being "healthy", but as plants "recovered" from the disease, although success of the infection, penetration and establishment of the pathogen was not demonstrated. On the basis of the depressed growth only a suggestion could be made in this sense.





Some examples for the spread of loose smut hyphae in four nodes of culm of six Hungarian wheat varieties

During the last four years we have carried out artificial inoculation experiments with *Ustilago tritici* and *Ustilago nuda* for the purpose of varietal resistance- and biotype-investigations. According to our experiences in an overwhelming majority of the cases, the reaction of the host plant is the normergic response, which is unable to impede the outbreak of the disease: the heads are smutted and destroyed by the loose smut. In case of a combination of a smut race from spring wheat and two winter wheat varieties, however, we noticed a phenomenon identical with the original observations of OORT, and we came to the conclusion that a parabiontic relation exists between these partners.

Material for the experiment consisted of six winter wheat varieties. Artificial inoculation was performed by floral injections (3). In each case 300 seeds obtained were planted in three series. In a combination of a "spring smut biotype" and the HATVANI 37/1 and MINDENES variety, nearly all the plants became stunted and depressed. Development of the parasite can be most advantageously registered in the culm. The fungus develops

with the growth and differentiation of the plant tissues, and progressing intercellularly it grows mainly into the culm. Therefore, after the heading we have taken samples from all varieties and examined the presence of smut in the culms. According to STELZNER's method (4) we worked with three or four nodes of the culm. The nodes were cut longitudinally, and freehand sections or macerations prepared from the parenchyma. These were warmed up on slides in a drop of cotton blue solution containing lactophenol, whenafter the dye was removed and than washed with lactophenol. The fungus hyphae acquired a lively blue colouring and became easily recognizable. Results of the examination are shown schematically on the figure. The presence of the fungus could be demonstrated in one half of the depressed plants, although the disease failed to break out (healthy heads developed). But in such a case the pathogen never could attain the highest node. The infected plants examined can therefore be qualified as actually "recovered" individuals. It was the parasite which suffered more severe damage in this parabiontic relation: it could not reach its reproductive phase. In the nodes of the other depressed plants no hyphae could be traced any more: the pathogen was presumably completely eliminated by the hypersensitive plant. In the diseased plants (with smutty heads), which did not show a decrease in growth, the parasite can always be demonstrated, but this cannot be done in the case of healthy plants. Also establishment and penetration of the pathogen failed in these latter plants.

Final result of the hyperergic reaction of the host plant is that both partners — host and parasite — get damages. The attacked plant is checked in its growth and development and in more serious cases it will be killed. (This was experienced with the MINDENES variety.) If the plant survives, it suppresses the pathogen and escapes the disease. (It was chiefly the HATVANI 37/1 variety, which conspicuously exhibited this phenomenon.) The hypersensitivity of the host plant either confines the parasite locally to such an extent that it cannot reach the organ where it could ensure its reproduction or it eliminates totally the infective fungus and recovers completely from the disease.

Summary

Concerning the wheat-loose smut complex a parabiontic relation was established also in case of two Hungarian winter wheat varieties infected with a "spring smut-biotype". As a result of this defence reaction the pathogen will be killed or inhibited, precisely in consequence of the hyperergic reaction of the host. Therefore, the disease fails to break out, and if the host survives at all, it appears as healthy. The hypothesis, that these plants may be considered as actually "recovered", has been proved by microtechnical methods. In the culms of plants with smutty heads, the fungal hyphae could always be demonstrated. In healthy plants, showing no hyperergic reaction the presence of the fungus could not be detected at all.

On the contrary, in a lot of healthy plants, which exhibit the hyperergic reaction, the fungal hyphae were demonstrated, however, the pathogen could never attain the highest node and the head. Consequently, in this case, the hypersensitivity gives rise to recovery.

Zusammenfassung

Im Falle des Weizen-Flugbrand-Komplexes wurde das Vorhandensein einer parabiontischen Lebensgemeinschaft auch bei zwei ungarischen Winterweizen (mit einem von Sommerweizen stammenden Flugbrand-Biotyp künstlich beimpft) nachgewiesen. Durch diese Abwehrreaktion wird der Krankheitserreger vernichtet oder gehemmt, eben infolge der hyperergischen Reaktion des Wirtes. Die Krankheit kann sich deshalb nicht manifestieren, und wenn die Wirtspflanze die Infektion überlebt, erscheint sie als gesund. Die Richtigkeit der Hypothese, wonach diese Pflanzen tatsächlich als „gesundet“ betrachtet werden können, wurde durch die Anwendung mikrotechnischer Methoden experimentell bewiesen. Im Halm der kranken, flugbrandbefallene Ähren tragenden Pflanzen waren Pilzhyphen immer nachweisbar. In gesunden Pflanzen, die keine hyperergischen Reaktionen aufweisen, konnten wir die Hyphen des Flugbrandes gar nicht nachweisen. Es wurde im Gegenteil bewiesen, daß bei vielen gesunden, aber hyperergische Reaktionen zeigenden Pflanzen, der Krankheitserreger vorhanden ist, dessen Hyphen jedoch die höchsten Halmknoten und die Ähren nicht erreichen können. In diesem Falle wurde also durch die Hpersensitivität eine vollständige Gesundung des Wirtes ermöglicht.

Literature cited

1. Gäumann, E., 1952: Pflanzliche Infektionslehre. Birkhäuser, Basel.
2. Oort, A. J. P., 1947: Stuifbrand specialisatie, een probleem voor den kweker. Onderzoekingen over stuifbrand, III. — T. Pl.Ziekt. **53**, 25—43.
3. Poehlman, J. M., 1945: A simple method of inoculating barley with loose smut. — Phytopathology **35**, 640—644.
4. Stelzner, G., 1935: Einfacher Nachweis von Hyphen parasitärer Pilze im Halm der Gramineen. — Phytopath. Z. **8**, 369—371.

Über die Ausbreitung von Mosaikviren in der Tabakpflanze[1])

I. Das Verhalten der Kartoffelviren X und Y

Von

Erich Köhler

Mit einer Abbildung

Gelegentliche eigene Beobachtungen bei Infektionsversuchen deuteten darauf hin, daß das X-Virus ältere Tabakpflanzen nur sehr langsam durchdringt, unter Umständen sogar überhaupt nicht mehr die wachsende Sproßspitze erreicht. Demgegenüber durchdringt dieses Virus junge Pflanzen nach alter Erfahrung ebenso leicht wie andere Mosaikviren, auch bleibt die damit verbundene systemische Erkrankung beim weiteren Wachstum der Pflanze ausnahmslos bestehen. In diesem Zusammenhang verdient auch eine ältere Mitteilung von K. M. Smith (1931) Erwähnung, der am White Burley- und am Virginia-Tabak die Beobachtung machte, daß nach Verimpfung eines Gemisches der Viren X und Y das letztere zwei Tage vor dem X-Virus aus den Spitzenblättern abgeimpft werden konnte. Merkwürdigerweise scheint das auffällige Phänomen noch keine experimentelle Bearbeitung gefunden zu haben. Ich habe deshalb vor zwei Jahren mit der Analyse der Erscheinung, deren nahe Berührung mit gewissen Resistenzfragen auf der Hand zu liegen scheint, begonnen. Die bisherigen Ergebnisse werden im folgenden mitgeteilt.

Material und Methode

Als Versuchspflanze diente die Linie „Samsun Bashi Baghli gestielt" des türkischen Tabaks, Versuchsviren waren die Kartoffelviren X und Y, und zwar wurden vom X-Virus die Stämme M 23 und Bs, vom Y-Virus der Stamm Go 16 verwendet. Die beiden X-Stämme stimmten in allen wesentlichen Punkten überein. Die in 12-cm-Töpfen gezogenen Pflanzen erhielten als Beidüngung den Mischdünger „Hakaphos". Als Testpflanze zum Nachweis des X-Virus fand *Gomphrena globosa,* zum gemeinsamen oder getrennten Nachweis von X und Y fanden junge Pflanzen des Samsuntabaks, zum Nachweis des Y-Virus außerdem Blätter des *Solanum demissum*-Bastards A 6 Verwendung. Alle Verimpfungen wurden mit dem Glasspatel nach Bestreuen der Impffläche mit Karborundpuder vorgenommen.

[1]) Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.



Tabakblatt mit aufgelegtem Impfring aus Pappe

Außer der üblichen Blatteinreibung auf ganzer Fläche wurde noch folgende Impfmethode angewandt: Man schneidet aus einem leichten Pappkarton kreisförmige Stücke von 25 mm Durchmesser mit einem freien Innenkreis von 13 mm Durchmesser aus, so daß ein Ring von 6 mm Breite entsteht. Der Pappring wird so auf das zu beimpfende Blatt gelegt, daß er mit seiner Mediane auf eine Seitenader erster Ordnung zu liegen kommt (s. Abbildung). Damit der Ring dicht aufliegt und kein Impfsaft unter den Rand kommen kann, muß er vorher auf seiner Unterseite leicht mit Vaseline eingefettet werden. Nach dem Auflegen wird der Außenrand des Ringes mit Tusche nachgezeichnet. Zur „Impfung in den Ring" wird der Innenkreis mit Karborundpuder bestreut und Impfsaft mit dem Glasspatel vorsichtig aufgerieben. Etwaigen Überschuß tupft man mit Filtrierpapier ab, hebt den Ring vorsichtig vom Blatt und läßt langsam abtrocknen. Nach bestimmter Zeit wird der markierte Kreis aus dem Blatt ausgeschnitten.

I. Versuche über die Virusausbreitung im Blatt

Mit Impfungen in den Ring wurde die Frage geprüft, wie lange das Virus braucht, um die 6 mm breite Zone zu überwinden.

In einem vergleichenden Versuch (18. Oktober 1955) mit den X-Stämmen M 23 und Bs wurden die Kreise nach drei, sechs und neun Tagen aus den Blättern ausgeschnitten. Die 22 Tage nach der Impfung vorgenommene Testung des Umgebungsgewebes ergab folgendes: Nach drei Tagen hatten beide Stämme in je einem von neun Fällen, nach sechs Tagen in allen 18 Fällen den Ring passiert. Die beiden X-Stämme verhielten sich gleich. Die Höchstgeschwindigkeit der Ausbreitung des Virus würde sich danach auf 0,083 mm/Std. errechnen. Es ist allerdings fraglich, ob dieser Wert als endgültig zu betrachten ist; denn es ist anzunehmen, daß die Ausbreitung des geimpften Virus an den Beginn seiner Vermehrung gebunden ist. Sollte, was bisher weder bewiesen noch widerlegt ist, die Vermehrung erst nach einer „Vorbereitungszeit" (Eklipse) beginnen können, so wäre deren Dauer in Abzug zu bringen. Rechnet man mit einer Dauer von 24 Stunden, wie sie beim Tabakmosaikvirus für möglich gehalten wird, so würde sich der obige

Wert auf 0,125 mm/Std. erhöhen. Dies wäre etwa das Zehnfache des für die kreisförmige Ausbreitung im Interkostalfeld errechneten Betrages (8), würde aber den von ZECH (1952) für die Ausbreitung des Tabakmosaikvirus im Scheidenparenchym der Leitbahnen ermittelten, unwahrscheinlich hohen Wert von 8,1 mm/Std. bei weitem nicht erreichen.

In einem anderen Versuch (7. Dezember 1954) mit dem X- und dem Y-Virus an 30 Ringen hatten beide getrennt verimpfte Viren in allen Fällen den Ring nach vier Tagen passiert; der 3-Tage-Intervall war hierbei nicht untersucht worden.

In einem weiteren Versuch (14. Februar 1955) wurde das Gemisch XY verimpft. Beide Viren passierten einen Teil der Ringe übereinstimmend in fünf Tagen (noch nicht nach zwei, drei und vier Tagen), sämtliche Ringe in sechs Tagen. Beide Viren hatten also die gleiche Ausbreitungsgeschwindigkeit. In diesem Versuch wurde nicht nur das Umgebungsgewebe des Ringes getestet, sondern auch die Preßsäfte aus den Blättern der Sproßspitze. Beim X-Virus deckte sich das diesbezügliche Ergebnis völlig mit dem der Testung des Umgebungsgewebes. Nicht so beim Y. Dieses Virus ließ sich später einwandfrei in den Spitzenblättern nachweisen, obwohl die Testung des Umgebungsgewebes negativ geblieben war. Man darf deshalb vermuten, daß sich das Y auf dem Wanderwege weniger intensiv vermehrt als das X, so daß es sich u. U. dem Nachweis entzieht.

In einigen Versuchen (21. Mai 1954; 3. Juli 1954) wurden die Ringe so auf das Blatt gelegt, daß sie nicht auf eine Seitenader erster Ordnung, sondern zwischen zwei solche Adern zu liegen kamen. In diesen Fällen durchwanderte das allein verimpfte X-Virus die 6-mm-Zone in frühestens sieben Tagen, was einer wesentlich verminderten Geschwindigkeit von 0,036 mm/Std. entspricht. Wenn dieser Wert noch über dem früher (KÖHLER 1947) für die Ausbreitung im reinen Interkostalgewebe errechneten Wert (= 0,013 mm/Std.) liegt, so ist dies verständlich. Denn bei dieser Art des Impfens läßt es sich kaum vermeiden, daß sich streckenweise eine der feinen Seitenadern zweiter Ordnung in den Ring einschiebt: das Virus ist dann bei seiner Ausbreitung nicht ausschließlich auf interkostales Gewebe angewiesen.

Einige Versuche machten es wahrscheinlich, daß bei älteren Pflanzen die Einwanderung des X-Virus aus dem Blatt in den Stengel gegenüber dem Y-Virus leicht verzögert ist: In einem Versuch (22. Juni 1955) wurde das Gemisch XY an Pflanzen von etwa 35 cm Stammhöhe auf Einzelblätter verschiedener Höhe verimpft. Die Spreiten der auf der ganzen Oberseite eingeriebenen Blätter wurden nach drei, sechs und neun Tagen abgeschnitten, die Stiele wurden stehengelassen. Die nach einer entsprechenden Wartezeit vorgenommene Testung aus diesen Stielen ließ erkennen, daß das X-Virus drei Tage nach der Impfung nur in einem von 18 Stielen (= 18 Pflanzen) in Spuren vorhanden war, nach sechs Tagen dagegen in 35 von 36 Stielen, und zwar meist in großer Menge. Demgegenüber hatte

das Y, wie die deutliche Aufhellung der Nerven an den Spitzenblättern später erkennen ließ, alle Blattstiele schon an dritten Tage passiert. Die Höhe des Blattes am Stamm war übrigens ohne Einfluß auf den Zeitpunkt der Auswanderung. Bei einem zweiten ähnlichen Versuch (20. Juli 1955), bei dem X allein auf Blätter im unteren Stammdrittel verimpft wurde, war die Verzögerung noch deutlicher. Offenbar unterliegt das X-Virus schon bei seiner Wanderung im Blattstiel einer, wenn auch schwachen Hemmung.

Die Ergebnisse des vorstehenden Abschnittes lassen sich wie folgt zusammenfassen: Wenn man die Viren X und Y auf einen kreisförmigen Bezirk von 13 mm Durchmesser über einer Seitenader erster Ordnung des Tabakblattes (Oberseite) impft, so legen sie, davon ausgehend, eine Strecke von 6 mm in drei bis fünf Tagen zurück. Dabei „wandern“ die beiden Viren etwa gleich schnell. Als Höchstgeschwindigkeit wurden beim X-Virus 0,083 mm/Std. ermittelt, jedoch ist dieser Wert vielleicht noch etwas zu niedrig, da die für möglich gehaltene „Eklipse“ bei seiner Berechnung nicht berücksichtigt ist. Auch mit 0,083 mm/Std. übersteigt dieser Wert beträchtlich den früher für die Ausbreitung im reinen Interkostalgewebe ermittelten Wert von 0,013 mm/Std. Dies läßt darauf schließen, daß sich das Virus beim schnellen Durchwandern des Ringes der langgestreckten Zellen im Bereich der Ader — vorzugsweise wohl des Scheidenparenchyms — bedient. Es wurden Anhaltspunkte dafür gewonnen, daß die Wanderung des X-Virus im Blattstiel gegenüber der des Y-Virus leicht verlangsamt ist.

II. Versuche über die Virusausbreitung im Stengel

In einem Versuch (4. April 1955) wurden 15 Samsunpflanzen von 35—40 cm Höhe an einem unteren Blatt auf dessen ganzer Oberseite mit dem Gemisch der Viren X und Y geimpft. Ergebnis: das Y war in den Blättern der Sproßspitze drei Tage früher nachzuweisen als das X, hatte also einen beträchtlichen Vorsprung. Diesem Verhalten entsprach auch ganz das Erscheinen der Mischsymptome an den wachsenden Sproßspitzen, wenngleich ihr Auftreten entsprechend verzögert war. In einem anderen Versuch (15. Juni 1955) wurden Pflanzen von 35 cm Höhe an einem unteren Blatt entweder mit X oder Y geimpft. Während sich das Y schon nach sechs Tagen bei vier von fünf und nach acht und zehn Tagen bei zehn von zehn Pflanzen in den Spitzenblättern nachweisen ließ, war der Befund für das X auch noch nach zehn Tagen völlig negativ. Im Saft von Stengelstücken, die später aus der ganzen Länge von zwei nunmehr 75 und 81 cm hohen Pflanzen entnommen wurden, konnte das X nach 23 Tagen noch nicht (oder nicht mehr?) nachgewiesen werden.

Bei einem ähnlichen Versuch (20. Juni 1955) an etwa 35 cm hohen Pflanzen wurden die beiden Viren wieder im Gemisch verimpft. Die nach

Tabelle 1

	Pfl. Nr.	Pflanzenhöhe (cm)	a) von den Spitzenblättern zu: Samsun (2 Pflanzen)		a) von den Spitzenblättern zu: *Gomphrena* (2 Blätter)		b) von den Stengelstücken zu: Samsun (2 Pflanzen)		b) von den Stengelstücken zu: *Gomphrena* (2 Blätter)	
I. Termin (nach fünf Tagen)										
Gruppe der älteren Pflanzen	1	37,5	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	42	Y	0	0	0	0	0	0	(X)***
	3	39	0	0	0	0	0	0	0	0
			Gesamt: 1 Y*, o X**				o Y, 1 X			
Gruppe der mittelalten Pflanzen	10	30	0	0	0	0	0	0	0	0
	11	25	0	0	0	0	0	0	0	0
	12	34	Y	Y	0	0	0	0	0	0
			Gesamt: 1 Y, o X				o Y, o X			
Gruppe der jungen Pflanzen	19	12	XY	XY	0	(X)	Y	XY	0	0
	20	14	XY	XY	X	(X)	Y	XY	0	(X)
	21	13	Y	XY	0	0	Y	Y	0	0
			Gesamt: 3 Y, 3 X				3 Y, 2 X			
II. Termin (nach acht Tagen)										
Gruppe der älteren Pflanzen	4	51	Y	Y	0	0	Y	Y	0	0
	5	52	Y	Y	0	0	XY	XY	0	(X)
	6	52	Y	Y	0	0	Y	Y	0	0
			Gesamt: 3 Y, 0 X				3 Y, 1 X			
Gruppe der mittelalten Pflanzen	13	38	*Y*	*Y**)	X	X			X	(X)
	14	32,5	*Y*	*Y*	X	X			X	X
	15	32,5	*Y*	*Y*	(X)	(X)			(X)	(X)
Gruppe der jungen Pflanzen	22	16	*Y*	*Y**)	X	X			X	X
	23	13	*Y*	*Y*	X	X			X	X
	24	15	*Y*	*Y*	X	X			X	X
III. Termin (nach elf Tagen)										
Gruppe der älteren Pflanzen	7	49	Y	Y	0	0	XY	XY	0	(X)
	8	59	Y	Y	0	0	Y	Y	0	0
	9	47,5	Y	XY	(X)	0	XY	XY	0	0
			Gesamt: 3 Y, 1 X				3 Y, 2 X			
Gruppe der mittelalten Pflanzen	16	36	*Y*	*Y**)	X	X			(X)	(X)
	17	38	*Y*	*Y*	X	X			X	X
	18	47	*Y*	*Y*	X	X			X	X
Gruppe der jungen Pflanzen	25	19	*Y*	*Y**)	X	X			X	X
	26	21	*Y*	*Y*	X	X			X	X
	27	20	*Y*	*Y*	X	X			X	X

Anmerkungen:
* 1 Y bedeutet: bei einer von den drei Pflanzen ist Y nachgewiesen.
** o X bedeutet: bei keiner von den drei Pflanzen ist X nachgewiesen.
*** (X) bedeutet: nur wenig X nachgewiesen.
*) *Y* (kursiv): Befund nach den Symptomen an den Versuchspflanzen selbst.

vier Wochen vorgenommene Testung von Stengelstücken aus der ganzen Länge von sechs nunmehr 80—90 cm hohen Pflanzen war wiederum negativ für X; das Y war schon nach elf Tagen in den Spitzenblättern nachzuweisen gewesen.

Das X-Virus war also in den beiden letzten Versuchen entweder gar nicht in den Stengel eingewandert oder aber es war darin inaktiviert worden. Das erste muß nach den oben und unten mitgeteilten Versuchen als recht unwahrscheinlich gelten.

Wie sehr das Ergebnis vom Alter der Pflanze im Zeitpunkt der Impfung abhängig ist, zeigt der folgende Versuch mit drei Altersgruppen, der etwas ausführlicher geschildert sei. Die Pflanzen der ältesten Gruppe waren am Tage der Impfung mit dem Virusgemisch 28—38 cm hoch (bis zur Vegetationsspitze gemessen), die der mittleren Gruppe 15—20 cm und die der jüngsten 5,5—7 cm. Jede Gruppe umfaßte neun Pflanzen. Die Beimpfung mit dem Virusgemisch wurde durchweg an einem unteren, noch frischen Blatt durch Einreibung der Oberseite vorgenommen. Die Abimpfungen zum Zwecke der Testung erfolgten jeweils von drei Pflanzen der drei Gruppen nach fünf, acht und elf Tagen. Dabei wurden sowohl Säfte aus den Spitzenblättern als auch gleichzeitig aus der unteren Stengelpartie getestet. Das Stück aus der Stengelpartie umfaßte eine Länge von $1^1/_2$ Internodien unmittelbar oberhalb des eingeriebenen Blattes.

1. Krankheitsverlauf

Nach fünf Tagen sind noch bei keiner Gruppe Folgesymptome wahrzunehmen, auf den eingeriebenen Blättern sind bei allen Gruppen Primärsymptome (Einzelherde) in großer Zahl erschienen.

Nach sechs Tagen: a) Junge Pflanzen: Deutliche Mischsymptome an den Spitzenblättern bei 4, beginnende Mischsymptome bei 2 von 6 Pflanzen.

b) Mittelalte Pflanzen: Bei allen 6 Pflanzen die für Y-Infektion kennzeichnende Nervenaufhellung, zum Teil kräftig, zum Teil auch erst im Beginn. Noch keine Spur von Mischsymptomen.

c) Alte Pflanzen: Spitzenblätter noch ganz ohne Symptome.

Nach acht Tagen: Bei 2 von 6 Pflanzen der mittleren Gruppe (b) machen sich an der Spitze erstmalig leichte Mischsymptome bemerkbar.

Nach zwölf Tagen zeigen sich auch bei der mittleren Gruppe leichte Anzeichen von X-Infektion. Bei den alten Pflanzen zeigt sich zwar Adernaufhellung, jedoch sind noch keine X-Symptome vorhanden.

Diese Beobachtungen lassen auf einen starken Vorsprung des Y im Erreichen der Sproßspitze bei älteren Pflanzen schließen. Durch die nachstehenden Abimpfungsergebnisse (Tabelle 1) wird dies bestätigt.

2. Abimpfungen von den Spitzenblättern

Nach fünf Tagen: Bei allen jungen Pflanzen sind schon beide Viren in die Spitzenregion eingewandert, während in den beiden anderen Altersgruppen nur das Y, und zwar bei je einer Pflanze, nachzuweisen ist.

Nach acht Tagen: Bei allen drei Pflanzen der alten Gruppe ist zwar das Y, nicht jedoch das X in die Spitzenregion vorgedrungen. Bei den Gruppen der mittelalten und jungen Pflanzen ist ein solcher Vorsprung des Y-Virus nicht mehr vorhanden, hier sind jetzt überall beide Viren in der Spitze angelangt.

Nach elf Tagen: Auch bei der Gruppe der ältesten Pflanzen ist der Vorsprung des Y jetzt etwas abgeschwächt, denn das X hat bei einer Pflanze die Spitze erreicht.

3. Abimpfungen von den Stengelstücken

Hier ist vor allem der große Unterschied im Infektionserfolg des ersten Abimpfungstermins (nach fünf Tagen) zwischen den Pflanzen der jungen und der mittelalten Gruppe bemerkenswert. Bei der letzten Gruppe gelingt überhaupt noch kein Virusnachweis, dagegen bei den jungen Pflanzen dreimaliger Y- und zweimaliger X-Nachweis. Schon drei Tage später war der Unterschied völlig ausgeglichen. Das Y-Virus wurde in den Stengelstücken etwas früher angetroffen als das X. Fast bei allen Pflanzen, bei denen das X in den Spitzenblättern nachzuweisen war, wurde es auch in den Stengelstücken angetroffen. Das Umgekehrte trifft jedoch nicht überall zu; in mehreren alten Pflanzen konnte X in den Stengelstücken nachgewiesen werden, nicht jedoch in den Spitzenblättern. Es war also in den Stengel eingewandert, hatte aber offenbar die Spitze noch nicht erreicht, wenigstens nicht in nachweisbarer Menge. — Bemerkt sei noch, daß der *Gomphrena*-Test fast durchgängig eine etwas geringere Empfindlichkeit beim X-Nachweis aufwies als der Samsuntest.

Ähnlich wie bei den Pflanzen der mittleren Gruppe des vorstehenden Versuchs verhielten sich die beiden Viren in einem anderen Versuch (7. Dezember 1954) bei etwas älteren Pflanzen, die im Zeitpunkt der Impfung schon etwa 20 cm hoch waren und bei denen die Viren getrennt in den Ring geimpft wurden.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß der Vorsprung des Y-Virus im Erreichen der Sproßspitze um so größer ist, je älter die Pflanzen bei der Impfung waren; bei sehr jungen Pflanzen ist ein solcher Unterschied nicht feststellbar.

In mehreren Versuchen wurde die Frage geprüft, ob sich die im Gemisch verimpften Viren X und Y bei ihrer Wanderung gegenseitig

beeinflussen. Z. B. wurden 24 ältere Pflanzen von etwa 35 cm Höhe in drei Gruppen (a, b und c) von je acht Pflanzen eingeteilt. Gruppe a wurde mit dem Gemisch, Gruppe b mit X allein und Gruppe c mit Y allein geimpft. Die Impfung erfolgte jeweils an einem unteren Blatt. Die nach vier und elf Tagen vorgenommene Testung der Säfte aus den Spitzenblättern ergab folgendes: Nach vier Tagen war der Befund für beide Viren überall negativ. Nach elf Tagen wurde zwar das Y bei sämtlichen damit geimpften Pflanzen (a und c) in den Spitzenblättern angetroffen, jedoch in keiner Pflanze (a und b) das X. Das für X negative Ergebnis war nicht etwa darauf zurückzuführen, daß sich das Virus in den eingeriebenen Blättern ungenügend vermehrt hatte; eine am elften Tag vorgenommene Testung bewies im Gegenteil hohen X-Gehalt bei diesen Blättern.

Dieser wie andere analoge Versuche, auf deren Beschreibung verzichtet werden kann, lehren, daß es für die Ausbreitung des X-Virus belanglos ist, ob es im Gemisch mit dem Y verimpft wird oder nicht. Im einen wie im anderen Falle ist es in seiner Ausbreitung gehemmt.

Der beträchtliche Vorsprung des Y im Erreichen der Sproßspitzen zeigte sich an Pflanzen von 35 cm Höhe auch dann, wenn das X auf die eine, das Y auf die andere Seite eines und desselben unteren Blattes, oder wenn ein unteres Blatt mit Y und das nächsthöhere mit X geimpft wurde, und schließlich ebenso, wenn die Viren einzeln auf verschiedene Pflanzen geimpft wurden.

Nach Bennetts (u. a. 1940) Untersuchungen an verschiedenen Objekten wird die Virusleitung zur wachsenden Sproßspitze stark beschleunigt ,wenn man alle ausgewachsenen Blätter von der Pflanze abtrennt und außer dem geimpften Blatt nur die jungen Spitzenblätter stehenläßt. Unsere diesbezüglichen vergleichenden Versuche mit entblätterten und nicht entblätterten älteren Pflanzen ließen einen solchen Effekt auf das X-Virus nicht erkennen. Bei der Verimpfung des XY-Gemisches an 41—49 cm hohen entblätterten Pflanzen konnte nicht entfernt eine Angleichung des X an das Y erreicht werden, Y behielt seinen Vorsprung von mehreren Tagen. Dies läßt darauf schließen, daß es sich bei der Ausbreitungshemmung des X-Virus nicht um eine Transportfrage handeln kann, sondern daß ein ganz anderer Faktor in Betracht zu ziehen ist. Wenn man annimmt, daß das X-Virus bei seiner Wanderung im Stengel bzw. im Phloëm inaktivierenden Einflüssen unterliegt, wird sein von anderen Virusarten abweichendes Verhalten verständlich. Diese Annahme wird u. a. durch den folgenden Versuch (vom 11. November 1955) nahegelegt:

20 Pflanzen von 30—35 cm Höhe wurden an einem Blatt des unteren Drittels mit X geimpft. Die Pflanzen Nr. 11—20 wurden wie beschrieben

entblättert, die Pflanzen Nr. 1—10 behielten dagegen ihre Blätter. Nach sieben Tagen wurden von den Pflanzen Nr. 1—5 und 11—15 Abimpfungen gemacht, und zwar

a) mit Säften aus Spitzenblättern und

b) mit Säften aus unteren, 6 cm langen Stengelstücken, die im Abstand von 1 cm über dem eingeriebenen Blatt entnommen waren.

Mit jeder Saftprobe wurde eine junge Samsunpflanze geimpft. In der gleichen Weise wurde sieben Tage später mit Säften der Pflanzen Nr. 6—10 und 16—20 verfahren. Das Ergebnis der Impfung des siebenten Tages ist aus Tabelle 2 ersichtlich.

Tabelle 2

Pflanze Nr.		Entfernung zwischen dem geimpften Blatt und der Sproßspitze (cm)	Säfte aus	
			a) Spitzenblättern	b) Stengelstücken
1	nicht entblättert	25,5	o. B. (ohne Befund)	o. B.
2	nicht entblättert	23,5	positiv	positiv
3	nicht entblättert	25,5	o. B.	o. B.
4	nicht entblättert	28,5	o. B.	o. B.
5	nicht entblättert	26,5	o. B.	positiv
11	entblättert	29,5	o. B.	positiv
12	entblättert	25,5	o. B.	o. B.
13	entblättert	25,0	positiv	positiv
14	entblättert	24,5	o. B.	o. B.
15	entblättert	27,0	o. B.	positiv

Bei beiden Behandlungsarten war das Virus jedesmal nur bei einer von fünf Pflanzen bis in die Spitzenblätter vorgedrungen. Dabei ist es bemerkensmert, daß bei diesen beiden Pflanzen (Nr. 2 und Nr. 4) die Entfernung vom eingeriebenen Blatt bis zur Spitze relativ kurz war. In den Stengelstücken war das Virus bei „nicht entblättert" in zwei, bei „entblättert" in drei Fällen nachzuweisen. Obwohl die entblätterten Pflanzen in ihrem Längenwachstum zurückgeblieben waren, das Virus also sogar kürzere Strecken zurückzulegen hatte als in den nicht entblätterten, war es doch nicht eher in der Spitze angelangt. Das Entblättern blieb also auch in diesem Versuch ohne nachweisbare Wirkung auf die Ausbreitungsgeschwindigkeit des X-Virus.

Die am 14. Tage nach der Impfung gemachten Testungen waren in allen Fällen gut positiv; bei allen Pflanzen war das Virus jetzt in die Spitzenblätter vorgedrungen. Offenbar reichten die inaktivierenden Gegenkräfte nicht aus, um dem Virus das schließliche Erreichen der Sproßspitze zu verwehren.

Überraschend ungleich war das Ergebnis bei einem Versuch (14. September 1955) mit zwölf Pflanzen von 40—50 cm Höhe, also relativ alten

Tabelle 3

Verimpfung von Säften aus Stengelstücken zu je 4 *Gomphrena*-blättern (X-Testung) am 13. Oktober

Pflanze Nr.	Entfernung zwischen dem geimpften Blatt und der Sproß-spitze (cm)	a) untere Stengelstücke					b) obere Stengelstücke				
		*Gomphrena*blatt Nr.				Anzahl Befallspunkte	*Gomphrena*blatt Nr.				Anzahl Befallspunkte
		1	2	3	4		1	2	3	4	
1	30	+	+	+	+	4	0	0	0	0	0
2	25	++	++	++	++	8	++	++	++	++	8
3	26,5	++	+++	++	+++	10	+++	+++	++	++	10
4	29	0	+	0	0	1	0	0	0	0	0
5	22	+++	+++	+++	+++	12	+++	+++	+	++	9
6	29,5	++	++	++	++	8	0	0	0	0	0
7	27	+++	++	++	+++	10	+	0	+	++	4
8	27	+++	+++	+	++	9	+	++	+	++	6
9	25	0	0	+	0	1	0	0	0	0	0
10	24	+++	+++	++	+++	11	+	++	++	++	7
11	35	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
12	26,5	+	+	++	+	5	0	0	0	0	0

Anmerkung: 0 = ohne Befund.
+ = wenige Einzelherde (1 bis 10).
++ = ziemlich viele Einzelherde (10 bis 50).
+++ = sehr viele Einzelherde (mehr als 50).

Pflanzen, an denen die Blätter abgetrennt wurden. Die Pflanzen Nr. 1—6 wurden mit X allein, Nr. 7—12 mit dem Gemisch XY an einem unteren Blatt geimpft. Das X hatte die Spitzenblätter bei der Hälfte der Pflanzen am 23. Tage erreicht, das Y dagegen bei allen Pflanzen schon am 16. Tage. Die Testung von Säften aus den unteren und oberen Stengelstücken nach 30 Tagen hatte für X das in Tabelle 3 niedergelegte Ergebnis. Bei den sechs Pflanzen, in denen das X nicht in der Spitze angetroffen wurde, war es auch später (nach vier Wochen) nicht in den oberen Stengelstücken anzutreffen. In den dazugehörigen unteren Stengelstücken war es bei fünf Pflanzen wenn auch meist nur schwach vorhanden, bei einer Pflanze „fehlte" es auch hier. Bei fünf von diesen sechs Pflanzen (Nr. 1, 4, 6, 11 und 12) war die Entfernung zwischen dem geimpften Blatt und der Sproßspitze im Zeitpunkt der Impfung besonders groß, und am größten war sie bei der einen Pflanze (Nr. 11), bei der der Nachweis auch im unteren Stengelstück negativ war. Wieder läßt der Versuch die starken Hemmungen erkennen, denen die Ausbreitung des X-Virus im Gegensatz zum Y-Virus unterworfen ist. Dabei ist die Feststellung überraschend, daß schon geringe Unter-

schiede in der Länge des Transportweges das Ergebnis so nachhaltig beeinflussen können[1]). Wieder zeigt sich, daß die Gegenwart des Y ohne Einfluß auf das Verhalten des X ist.

III. Die Wanderungsgeschwindigkeit im Stengel

Einige unserer Versuche ermöglichen es, auch nähere Vorstellungen über die ungefähre Geschwindigkeit der Virusausbreitung in den Leitbahnen des Tabakstengels zu gewinnen:

In einem Versuch (23. August 1955) war bei der Gruppe der alten Pflanzen das Y-Virus frühestens fünf Tage nach der Impfung in der Spitze nachzuweisen. Rechnet man mit einer Dauer von drei Tagen, bis das Virus aus dem Blatt auswandert, so bleiben für die Fortbewegung in dem 33 cm langen Stengelstück zwei Tage, was einer Geschwindigkeit von 16,5 cm in 24 Stunden = etwa 0,7 cm/Std. entsprechen würde. Das X-Virus erschien in der Spitze frühestens nach elf Tagen; nach Abrechnung von drei Tagen brauchte es demnach zur Überwindung der 40 cm langen Strecke acht Tage = etwa 0,2 cm/Std. Bei den mittelgroßen Pflanzen desselben Versuchs errechnet sich für Y ein etwas niedrigerer Wert, nämlich etwa 0,6 cm/Std.; für das X-Virus lautet der entsprechende Wert wieder 0,2 cm/Std.

Ein sehr ähnlicher Wert für das X-Virus ergibt sich auch in einem anderen Versuch (11. November 1955). Das Virus erreichte hier die Spitze nach sieben Tagen. Rechnet man wieder drei Tage ab, so brauchte es vier Tage, um die 23,5 cm lange Strecke zu überwinden, was einer Durchschnittsgeschwindigkeit von rund 0,25 cm/Std. entspricht.

Die ermittelten Werte dürften nahezu Höchstgeschwindigkeiten vorstellen. Sie liegen in derselben Größenordnung, die sich auch bei gewissen anderen Objekten ergeben hat (vgl. insbesondere Böning 1928 und Capoor 1949).

Erörterung

Die Frage, wie es kommt, daß das Y-Virus bei älteren Tabakpflanzen regelmäßig soviel früher in der Sproßspitze nachzuweisen ist als das X-Virus, bedarf der Erklärung. Wie unsere diesbezüglichen Versuche lehren, kann es nicht daran liegen, daß das Y-Virus soviel schneller aus dem geimpften Blatt auswandern würde als das X. Es kann auch nicht daran liegen, daß die Partikeln des X-Virus größer wären als die des Y-Virus, denn nach den neuesten Meßergebnissen (2 und 3) trifft gerade das Umgekehrte zu. Auch die Annahme, daß die beiden Viren getrennte Wanderwege benutzen,

[1]) Dadurch, daß während des Versuchs noch Verschiebungen in den Wachstumsverhältnissen stattfanden, mögen diese Zusammenhänge bei manchen Pflanzen verwischt worden sein.

dürfte auszuschließen sein, denn nach unseren gut begründeten Vorstellungen sind beide Viren zum Ferntransport — und allein um diesen handelt es sich hier — gleichermaßen auf das Phloëm angewiesen. Es bleiben, soweit ich sehe, nur zwei Deutungsmöglichkeiten offen. Die eine, die meines Erachtens die größere Wahrscheinlichkeit für sich hat, ist die, daß das X-Virus auf seiner Wanderung im älteren Phloëm der Inaktivierung unterliegt. Bei dieser „Inaktivierung" könnte es sich um einen Zerfall der Virusteilchen handeln, es wäre aber auch denkbar, daß die gestaltlich unverändert bleibenden inaktivierten Teilchen die Sproßspitze ebenso schnell erreichen wie die aktiven des Y-Virus. Die andere Deutung würde besagen, daß das X-Virus durch spezifische Bindung an Zellinhaltsstoffe des Phloëms — vielleicht unter gleichzeitiger Inaktivierung — in diesem lokalisiert würde, daß es also auf dem Wege in die Spitze mehr oder weniger steckenbliebe.

In sehr jungen Pflanzen ist die Hemmung nicht wirksam; das X-Virus findet auf dem kurzen Wege zur Spitze keinen oder jedenfalls keinen nennenswerten Widerstand. Dem entspricht auch die bekannte Erfahrung, daß die Infektion bei alten Pflanzen am Zuwachs systemisch wird, wenn das X-Virus auf junge Blätter geimpft wird; die Sproßspitze der alten Pflanze verhält sich wie die junge Pflanze.

Die Inaktivierungshypothese wird auch durch verschiedene Befunde an anderen Objekten nahegelegt. So ist bekannt, daß das Tabakmosaikvirus nach seiner Verimpfung auf das Blatt von *Nicotiana glutinosa* sich in diesem vermehrt und auch in den Stengel übertritt, daß es aber in der Regel nicht in der Sproßspitze ankommt (6 und 7). Das gleiche beobachtete man bei Verimpfung des Kartoffel-A-Virus auf die Blätter bestimmter Rassen von *Solanum demissum* (9). Auch in diesen Fällen handelt es sich offenbar um eine im Phloëm sich abspielende Inaktivierung. Nur in einem scheinbaren Widerspruch zu dieser Deutung steht die folgende Erfahrung. Wenn man gesunde Sprosse von *Nicotiana glutinosa* oder *Solanum demissum* auf systemisch erkrankte Tabakpflanzen pfropft, so dringen die genannten Viren in hoher Konzentration in die Spitzen der Pfropfreiser vor, was ohne weiteres aus den schweren Symptomen zu erschließen ist, die an ihnen erscheinen. Auch diese Befunde fügen sich der Inaktivierungsvorstellung, wenn man die naheliegende Annahme macht, daß die inaktivierenden Kräfte des Phloëms zur Inaktivierung der einströmenden, relativ großen Virusmengen nicht mehr ausreichen. Diese Deutung ist ohne Schwierigkeit auch auf gewisse Befunde der oben mitgeteilten Versuche anwendbar, so, wenn sich gezeigt hat, daß geringe Differenzen in der Länge der zu überwindenden Wegstrecken den Ausbreitungserfolg so maßgebend beeinflussen. Dem jeweiligen Verhältnis, in welchem Inaktivierungspotenz und Virusmenge zueinander stehen, dürfte jedenfalls entscheidende Bedeutung zukommen. Daß dieses Verhältnis in Abhängigkeit von äußeren und inneren Bedingungen bedeutenden Schwankungen unterworfen sein müßte, liegt auf der Hand.

Zusammenfassung

Die Kartoffelviren X und Y wurden hinsichtlich ihrer Ausbreitungsgeschwindigkeit in Blatt und Stengel der Tabakpflanze untersucht. Dabei zeigte sich, daß die Ausbreitung der beiden Viren im Bereich einer Seitenader erster Ordnung des ausgewachsenen Blattes mit etwa übereinstimmender Geschwindigkeit erfolgt, jedenfalls ohne Hemmung für das X-Virus. Im Blattstiel ist die Ausbreitung des X-Virus im Vergleich zum Y-Virus schwach gehemmt. Eine viel stärkere Hemmung erfährt das X-Virus im Stengel älterer Pflanzen, wenn es auf ein unteres Blatt verimpft wird; es erreicht die Sproßspitze dann später als das Y-Virus. Seine Hemmung ist um so stärker, je älter die Pflanze im Zeitpunkt des Impfens war. Bei alten Pflanzen von über 40 cm Höhe scheint es die Spitze überhaupt nur noch ausnahmsweise zu erreichen.

Der Vorsprung des Y-Virus läßt sich auch durch Entblättern der Pflanze nicht aufheben; er wird auch dann nicht aufgehoben, wenn das X im Gemisch mit dem Y verimpft wird.

Das verschiedene Verhalten der beiden Viren kann nicht aus Unterschieden des Transportmechanismus erklärt werden, vielmehr ist anzunehmen, daß im Phloëm — auf das beide Viren beim Ferntransport gleichermaßen angewiesen sind — spezifische, nur die Ausbreitung des X-Virus hemmende Gegenkräfte wirksam sind. Wahrscheinlich unterliegt das X-Virus im Phloëm einer Inaktivierung, die je nach den Umständen einen größeren oder kleineren Teil der Virusteilchen oder auch alle Virusteilchen erfaßt; für das Mehr oder Weniger dürfte nicht zuletzt die Konzentration des Virus maßgebend sein. Auch eine Lokalisierung im Phloëm, etwa durch Bindung an Zellinhaltsstoffe, wäre denkbar.

Im Bereich einer Seitenader erster Ordnung des Tabakblattes legt das X- und vermutlich ebenso das Y-Virus eine 6 mm lange Strecke mit einer Geschwindigkeit von schätzungsweise 0,08 bis 0,12 mm/Std. zurück. Die Wanderungsgeschwindigkeit im Stengel wurde für das Y-Virus auf durchschnittlich 0,6 bis 0,7 cm/Std., für das X-Virus in nicht zu alten Pflanzen auf 0,2 bis 0,3 cm/Std. errechnet.

Literaturverzeichnis

1. Bennett, C. W., 1940: Relation of food translocation to movement of virus of tobacco mosaic. J. agric. Res. **60**, 361—390.

2. Bode, O., 1954: Das Elektronenmikroskop im Dienste der pflanzlichen Virusforschung. Mitt. Biol. Bundesanstalt, Berlin-Dahlem, Heft **81**, 43—51.

3. — — und Paul, H. L., 1955: Elektronenmikroskopische Untersuchungen über Kartoffelviren. I. Vermessungen an Teilchen des Kartoffel-X-Virus. Biochim. biophys. Acta **16**, 343—345.

4. Böning, K., 1928: Beiträge zum Studium der Infektionsvorgänge pflanzlicher Viruskrankheiten. Z. Parasitenkunde **1**, 198—230.

5. Capoor, S. P., 1949: The movement of tobacco mosaic viruses and potato X through tomato plants. Ann. appl. Biol. **36**, 307—319.

6. Köhler, E., 1941: Über die Resistenzeigenschaften von *Nicotiana glutinosa* gegenüber dem Tabakmosaikvirus. Z. f. Pflanzenkrankh. **51**, 449—462.

7. — —, 1947: Studien über den Infektionsverlauf bei Verimpfung des Tabakmosaik- und des Paratabakmosaikvirus auf *Nicotiana glutinosa* und *N. tabacum* (var. White Burley). Arch. ges. Virusforschg. **3**, 303—326.

8. — —, 1947: Über die Vermehrungs- und Ausbreitungsgeschwindigkeit des X-Virus im Blattparenchym. Z. f. Naturforschg. **2 b**, 29—34.

9. — —, 1952: Beiträge zur Kenntnis des A-Virus der Kartoffel. Phytopath. Z. **19**, 295—306.

10. Smith, K. M., 1931: On the composite nature of certain potato virus diseases of the mosaic group as revealed by the use of plant indicators and selective methods of transmission. Proc. roy. Soc. (London), B. **109**, 251—267.

11. Zech, H., 1952: Untersuchungen über den Infektionsvorgang und die Wanderung des Tabakmosaikvirus im Pflanzenkörper. Planta **40**, 461—514.

Aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft,
Institut für Mykologie, Berlin-Dahlem

Beiträge zur Kenntnis der Gattung *Cylindrocarpon* Wr.

I.
Cylindrocarpon radicicola Wr.
als Krankheitserreger an Alpenveilchen

Von

W. Gerlach

Mit 7 Abbildungen

Unter den bodenbewohnenden Arten der Pilzgattung *Cylindrocarpon* (17, 18) ist zweifellos *C. radicicola* (20) für den Phytopathologen der interessanteste und zugleich auch wichtigste Vertreter. Dieser wohl über die ganze Welt verbreitete Pilz ist immer wieder aus dem Boden und aus mehr oder weniger stark geschädigten unterirdischen Pflanzenteilen oder solchen dicht über der Erde isoliert worden. Als Wirtspflanzen sind sowohl Gehölze als auch krautige Pflanzen bekannt. Bevorzugt ist aber dieses *Cylindrocarpon* anscheinend an Pflanzen mit fleischigen Wurzel- oder Sproßorganen zu finden, wie z. B. Narzisse, Tulpe, Hyazinthe, Lilie, *Cyclamen*, Gloxinie, Spargel, Möhre, Zwiebel usw. Im Rahmen dieser Arbeit wird jedoch auf eine ausführliche Literaturübersicht verzichtet und auf die Zusammenfassung bei Nicot (10) verwiesen. Trotz seiner weiten Verbreitung und der stattlichen Anzahl von über 30 Wirtspflanzen-Gattungen ganz verschiedener systematischer Stellung wissen wir über die Schadbedeutung von *C. radicicola* aber noch sehr wenig. In den Fällen, in denen überhaupt Infektionsversuche durchgeführt wurden, waren sie oft erfolglos. Mit einiger Sicherheit dürfte der Pilz bis heute lediglich an Narzisse (1, 2, 3, 14, 16), Lilie (9, 15), Azalie (7) und *Prunus myrobalana* (5) als pathogen nachgewiesen worden sein. Doch selbst von diesen Beispielen erscheinen manche kaum eindeutig genug und sind deshalb mehrfach kritisch beurteilt oder angezweifelt worden (6, 11), so daß wir uns heute auch nicht annähernd ein klares Bild von der Schädlichkeit dieses Pilzes machen können. Diese Tatsache, die gleichermaßen für andere bodenbewohnende *Cylindrocarpon*-Arten zutrifft, ist nicht zuletzt der Grund dafür gewesen, daß 1954 im hiesigen Institut die Untersuchungen über Vertreter dieser Gattung wieder aufgenommen wurden, zumal Wollenweber (17, 18) hier vor etwa 40 Jahren diese Gattung aufgestellt und mit ihrer Bearbeitung begonnen hatte (19, 20, 21, 23).

Auf der Pflanzenschutztagung 1955 in Kassel hat nun Pape (12) von holländischen Untersuchungen über *C. radicicola* an *Cyclamen persicum* berichtet, und vor kurzem sind von Stahl (13) die Befallsbilder näher beschrieben und mit der *Fusarium*-Welke verglichen worden. Zum erstenmal hat 1935 Wolllenweber (22) *Cylindrocarpon*-Befall an Alpenveilchen erwähnt, allerdings mißlangen seine Infektionsversuche. Von Gerlach (4) wurde 1954 im Zusammenhang mit der *Fusarium*-Welke an *Cyclamen* erneut auf diesen Pilz hingewiesen. Da auch in den beiden seitdem vergangenen Jahren im hiesigen Institut immer wieder *C. radicicola* von Alpenveilchen mit meist charakteristischen Befallsmerkmalen isoliert worden ist — von den hier vorliegenden 22 Herkünften dieses Pilzes stammen allein 14 von *Cyclamen* — wurde die Schädlichkeit dieser *Cylindrocarpon*-Art an Alpenveilchen näher untersucht. Über die Ergebnisse soll in der vorliegenden Arbeit kurz berichtet werden, zumal inzwischen durch künstliche Infektionsversuche und Reisolierungen die Pathogenität eindeutig nachgewiesen werden konnte. Gleichzeitig wird näher auf die Morphologie des Erregers eingegangen, da in späteren Abhandlungen andere Vertreter der Gattung *Cylindrocarpon* eingehender beschrieben und die systematischen Verhältnisse in dieser Gruppe besprochen werden sollen.

Die meist unter dem Verdacht auf *Fusarium*-Welke eingeschickten Alpenveilchen, aus denen die 14 Kulturen von *C. radicicola* isoliert wurden, stammten aus dem norddeutschen Raum (Hamburg, Bremen, Oldenburg, Westfalen und Niedersachsen), aus Berlin und in einem Falle aus Schweden. Beobachtungen deuten darauf hin, daß in den betroffenen Betrieben zum Teil recht beachtliche Verluste auftraten, wie sie Stahl (13) auch für den Stuttgarter Raum angibt. Dies trifft besonders für eine Berliner Gärtnerei zu, deren *Cyclamen* 1954 bereits in den Pikierkästen zu einem großen Teil von diesem Pilz befallen waren. Ein anderer Betrieb aus Westfalen klagte über ständige, wenn auch nicht sehr hohe Ausfälle während der ganzen Kulturzeit.

Die beobachteten Befallsbilder decken sich weitestgehend mit den von Stahl beschriebenen. Bevorzugt greift der Pilz anscheinend junge Pflanzen an, wenn Knolle und Durchtrieb noch zart sind, er schädigt also bereits in den Winter- oder zeitigen Frühjahrsmonaten bei verhältnismäßig niedrigen Temperaturen. Die Temperaturansprüche dieser *Cylindrocarpon*-Art sind nämlich um etwa 5 ^{0} niedriger als die von *Fusarium oxysporum* f. *cyclaminis*. In einem orientierenden Versuch wurde das von Wollenweber (22) ermittelte Temperaturoptimum von 22 ^{0} C bestätigt.

An den Blattstielen treten in der Regel unmittelbar am Grunde oder dicht darüber anfangs blasse, gelblich-braune, später dunkelbraune, eingesunkene, meist längliche Flecken auf (Abb. 1). Oft sind diese ziemlich scharf, fast brennfleckenartig begrenzt, sie können jedoch auch allmählich in diffus verfärbtes Gewebe übergehen. Bei günstigen Bedingungen werden die Befallsstellen bereits innerhalb

weniger Tage so groß, daß die Blattstiele dort einschrumpfen und durchschnüren (Abb. 2). Diese knicken dann um und hängen mit den vergilbenden, absterbenden Blättern herab. Dadurch, daß anfangs regelmäßig äußerlich gut sichtbare, braune Flecken auftreten, ist die Krankheit in diesem frühen Stadium leicht von der *Fusarium*-Welke zu unterscheiden, bei der die Blattstiele dicht über der Knolle von innen heraus weich werden und umknicken. Wenn sich der *Cylindrocarpon*-Pilz einmal im Herzen der Knolle festgesetzt hat, dann stirbt nach und nach der ganze Durchtrieb ab.



Abb. 1. *Cylindrocarpon radicicola*, Befallsstellen an Blattstielen künstlich infizierter Alpenveilchen. Abb. 2 (rechts). Fortgeschrittener *Cylindrocarpon*-Befall an Blattstielen künstlich infizierter Alpenveilchen (vergrößert)

Auch an den Knollen selbst finden sich charakteristische Symptome in Gestalt brauner, flach eingesunkener, meist rundlicher Flecken (Abb. 3), die sich in fortgeschrittenem Krankheitsstadium einseitig oder auch gürtelartig über große Partien der Knollen ausdehnen und auch auf den Knollenboden übergreifen können (Abb. 4). Meist dringt der Pilz nur wenig tief von der Rinde her in das Knollengewebe ein, selbst dann noch, wenn die Flecken bereits beachtlich groß sind. Es zeigen sich so in durchschnittenen Knollen flache, scharf begrenzte, dunkelbraune, trockene nekrotische Befallsherde (Abb. 5). Wahrscheinlich sind vielfach solche Bilder bisher als Befall von *Thielaviopsis basicola* (Wurzelbräune), *Pythium de Baryanum* oder *Rhizoctonia solani* (Sämlingssterben, Schwarzbeinigkeit, Umfallkrankheit usw.) angesprochen worden.

An stark geschädigten Knollen ist dann vielfach auch das Wurzelwerk abgestorben (Abb. 4), und es bleibt in der Erde zurück, wenn man solche Pflanzen herauszieht. Als Infektionsstellen und eigentlicher Ausgangspunkt der Erkrankung an *Cylindrocarpon*-Befall dürften aber die Wurzeln kaum die überragende Bedeutung haben wie bei der *Fusarium*-Welke. Vielmehr bevorzugt anscheinend *C. radicicola* die Pflanzenteile in der Nähe der Bodenoberfläche und bleibt dort stärker auf die Befallsstellen beschränkt als das *Fusarium,* das ja als typischer Gefäßparasit sehr schnell in den Leitungsbahnen die ganze Pflanze durchwachsen kann.

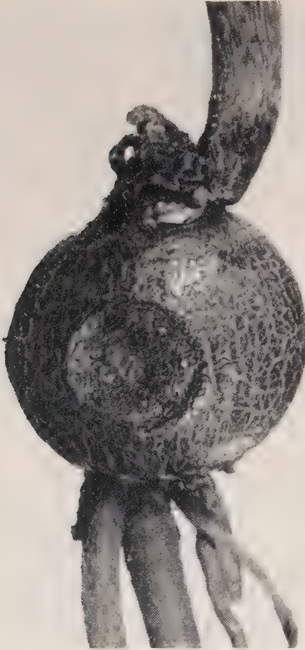




Abb. 3 (links). Junge Knolle von *Cylindrocarpon* infiziert (vergrößert)

Abb. 4 (rechts). *Cyclamen*-Sämling mit starkem Knollenbefall durch *Cylindrocarpon*

Macht sich auch der Befall am deutlichsten an Jungpflanzen bemerkbar, so dürfen trotzdem die Schäden an älteren Pflanzen nicht unterschätzt werden, zumal auch Blütenstiele in gleicher Weise angegriffen werden wie die Blattstiele. Hier deuten ebenfalls abgestorbene Blätter mit braunen, eingeschnürten Blattstielen und Knollen mit eingesunkenen Rindenflecken, die oft die Knolle aufreißen und deformieren, auf *Cylindrocarpon*-Befall hin. So sind z. B. mehrjährige, kräftige Versuchspflanzen von *Cyclamen africanum* und *C. neapolitanum* nach und nach von *C. radicicola* abgetötet worden.

Die in der Natur beobachteten Befallsbilder traten in künstlichen Infektionsversuchen bereits nach wenigen Wochen eindeutig wieder auf. Die Abb. 1—5 stammen von solchen künstlich infizierten Alpenveilchen. Es wurden sowohl verletzte als auch unverletzte, einmal pikierte Pflanzen infiziert,

indem sie bis über die Knollen in eine Sporenaufschwemmung des Erregers eingetaucht oder in künstlich verseuchte Erde gepflanzt wurden. Für die Erdinfektion diente ein Torfmull-Sand-Häcksel-Gemisch mit Malzextraktzusatz, das sterilisiert, mit dem Pilz beimpft und etwa drei Wochen später in gedämpfte Erde untergemischt wurde. Wenn auch die Infektionen an verletzten Pflanzen schneller und zahlreicher angingen — besonders bei dem Tauchverfahren —, so war der *Cylindrocarpon*-Pilz doch durchaus in der Lage, auch unverletzte Pflanzen anzugreifen.



Abb. 5. Durchschnittene *Cyclamen*-Knollen mit scharf begrenzten nekrotischen Befallsherden von *C. radicicola* (vergrößert)

Nach unseren bisherigen Beobachtungen und Kenntnissen von der Lebensweise dieses Pilzes dürfte in den Gärtnereien die verseuchte Erde zweifellos als Infektionsquelle die entscheidende Rolle spielen, zumal der Erreger sehr wahrscheinlich auch auf totem organischem Material leben und sich notfalls mit seinen dickwandigen Chlamydosporen längere Zeit in einem Ruhezustand im Boden halten kann. Offenbar handelt es sich bei diesem Vertreter um einen besonders hartnäckigen Bodenbewohner, der nach Untersuchungen von Martin (8) selbst nach intensiver Erdentseuchung mit Dampf oder Fungiziden sehr schnell seine Population erneuert und einen wesentlichen Anteil an der Pilzflora des Bodens ausmacht. Zur Bekämpfung müssen daher in erster Linie vorbeugende hygienische Maßnahmen wie besonders sorgfältige Erddämpfung, Verwendung entseuchter oder möglichst neuer Pikierkästen und Töpfe, saubere Kulturräume und einwandfreies Gießwasser empfohlen werden. Vielleicht läßt sich dieser Pilz aber doch besser als das Welke-*Fusarium* mit Fungiziden fassen, die von oben gegossen, gespritzt oder in das Herz gestäubt werden (vgl. Stahl), wenn man bedenkt, daß ja bei *C. radicicola* die Infektionen sehr häufig an den Pflanzenteilen in der Nähe der Erdoberfläche erfolgen. Solange darüber noch keine Untersuchungen vorliegen, kann diese Frage jedoch ebensowenig entschieden werden wie die, ob es sich bei dem *Cylindrocarpon* an *Cyclamen* um eine besonders spezialisierte Form von *C. radicicola* handelt, die vorwiegend oder ausschließlich Alpenveilchen befällt. Nach allem, was wir bisher über diesen *Cyclamen*-

schädiger wissen, läßt sich heute zweifellos mit Bestimmtheit sagen, daß dieser Pilz nicht ein harmloser Wurzelbewohner oder gelegentlicher Schwächeparasit ist, sondern er muß als durchaus ernst zu nehmender Krankheitserreger an Alpenveilchen angesprochen werden.

Der Cylindrocarpon-Pilz selbst ist leicht aus den Befallsstellen zu isolieren. Oft bildet er bereits an dem Wirt Luftmyzel oder Sporenlager (Abb. 2, Mitte), besonders dann, wenn kranke Pflanzenteile in der Feuchtkammer aufbewahrt werden. In Kultur wächst er verhältnismäßig langsam, etwa nur halb so schnell wie das Welke-*Fusarium*. Eine Petrischale von 9 cm Durchmesser ist nach etwa zwölf Tagen bei optimaler Temperatur völlig bewachsen. In der Regel ist diese *Cylindrocarpon*-Art — abgesehen von einigen nicht so häufigen Vertretern dieser Gattung — schon nach wenigen Tagen durch seine anfangs goldbraune, später sepia- bis dunkelbraune Färbung auf Reisbrei, Würze- und Hafermehlagar gut von anderen Pilzen zu unterscheiden. Außerdem duftet er unmittelbar nach der Isolierung auf Würzeagar-Platten nach parfümierter Seife, in Kultur geht diese Eigenschaft jedoch bald verloren.

In seinen morphologischen Merkmalen ist dieses *Cylindrocarpon* sehr variabel. Je nach Herkunft, Alter, Kulturverfahren, Nährsubstrat usw. weichen die einzelnen Isolierungen oft nicht unbeträchtlich voneinander ab, und selbst in ein und derselben Einsporkultur bekommt man häufig sehr unterschiedliche Sporenwerte, Septierungsverhältnisse usw. Ähnlich wie bei Vertretern der morphologisch sehr nahestehenden Gattung *Fusarium* wird man auch hier nur zu einem einigermaßen zuverlässigen Bild von den typischen Merkmalen kommen können, wenn man die Stämme hell und auf verschiedenen Nährsubstraten kultiviert, sich den natürlichen Anforderungen dieses Pilzes weitestgehend anpaßt, die typischen Merkmale in der Erstkultur nach der Isolierung festhält und sich in Beobachtungen über einen längeren Zeitraum einen Überblick über die Variationsbreite dieses Pilzes verschafft. Diese Verhältnisse hat Wollenweber (20) bereits bei der sehr weit gefaßten Diagnose berücksichtigt, die durch die folgenden morphologischen Beobachtungen an 14 Stämmen bestätigt und erweitert werden soll.

Das Luftmyzel ist anfangs weiß, flauschig, wird später meist durch eingelagerte Konidien sahne-, cremefarbig oder bräunlich, pulvrig und bei der Bildung plectenchymatischer Stromata auch heller bis dunkler braun.

Die Sporen sind hyalin, in Massen sahnefarbig und 0- bis 3-, sehr selten auch bis 4-septiert. Sie werden in falschen Köpfchen, gelegentlich in schleimiger Pionnotes und häufig an anfangs kaum, später meist pinselig, wirtelig oder unregelmäßig verzweigten Trägern gebildet, die sich manchmal zu typischen Sporodochien zusammenlagern. Kettige Konidien fehlen. Dadurch unterscheidet sich unser Pilz von *Septocylindrium radicicola* McAlpine, das von *Citrus*-Bäumen in Australien beschrieben ist, und das nach Wollen-

WEBER (20) seine Sporen deutlich in Ketten abschnürt. Die meist zylindrischen bis schwach ellipsoidischen Konidien sind gerade oder nur schwach gekrümmt, am Scheitel breit, häufig auch etwas einseitig abgerundet, nach der Fußzelle meist verschmälert und oft mit einer Ansatzpapille endend. Die in Tabelle 1 angegebenen Sporenwerte stimmen sowohl in den Durchschnitts- als auch in den Extremwerten recht gut mit WOLLENWEBERS Diagnose überein. Sie enthalten Sporenproben zu je 50 Konidien von allen 14 Stämmen von verschiedenen Substraten und dürften einen recht zuverlässigen Durchschnitt darstellen.

Tabelle 1

Konidiengrößen von *Cylindrocarpon radicicola* (in Mikron)

Zahl der Septen	Anzahl der gemessenen Sporen	Durchschnitt			Absolute Schwankung		
		Länge		Dicke	Länge		Dicke
0-sept.	500	9,4	×	3,5	4–24	×	2,0–5,2
1-sept.	1000	23,2	×	5,2	9–46	×	3,0–7,8
2-sept.	200	35,4	×	6,3	25–44	×	5,0–8,0
3-sept.	1000	36,2	×	6,6	21–55	×	4,8–9,1
4-sept.	5	41,4	×	6,5	38–48	×	6,2–7,0

Wie sehr aber selbst Sporenproben von je 50 Sporen aus diesem Material in ihren Durchschnittswerten voneinander abweichen können, geht aus Tabelle 2 hervor.

Tabelle 2

Schwankung der Durchschnittswerte von Sporenproben zu je 50 Konidien

Zahl der Septen	Anzahl der gemessenen Sporenproben	Schwankung der Durchschnittswerte		
		Länge		Dicke
0-sept.	10	6,7–12,9	×	3,0–4,2
1-sept.	20	16,9–29,3	×	4,4–5,9
2-sept.	4	32,3–36,7	×	6,1–6,5
3-sept.	20	29,8–43,6	×	6,0–7,4

Die einheitlichsten Sporenbilder mit dem höchsten Anteil an 3-septierten Makrokonidien (fast 100 %) wurden aus etwa drei bis sechs Wochen alten Sporodochien von Erstkulturen auf Gerstenähre und Luzernestengel erhalten (Abb. 6).

In alten Kulturen anastomosieren die Konidien sehr häufig untereinander. Es entstehen dann vielfach gallertige, braune Plectenchyme, in denen die Sporen und Hyphen ebenfalls braun gefärbt sind.

Chlamydosporen treten sowohl in Konidien wie im Myzel auf, wo sie meist etwas größer sind und ein- bis mehrzellig interkalar oder terminal, häufig kettig oder in Klumpen zusammengeballt gebildet werden. Sie sind meist rund und glatt, anfangs ungefärbt, werden aber später in der Regel goldbraun. Diese zahlreichen und schön entwickelten Chlamydosporen sind geradezu charakteristisch für diesen Pilz, der damit ein typischer Ver-

treter der chlamydosporenbildenden *Cylindrocarpon*-Arten (Sect. *Chlamydospora* WR.) darstellt. Die Größen der Chlamydosporen sind:

Konidiochlamydosporen	einzellig	10,5 × 10,0 (8—13 × 8—12)
Myzelchlamydosporen	einzellig	12,0 × 11,0 (10—16 × 9—13)
Myzelchlamydosporen	zweizellig	20,0 × 12,0 (18—24 × 11—15)
Myzelchlamydosporen	dreigliedrig	28,0 × 12,0 (26—33 × 11—14)
Myzelchlamydosporen	viergliedrig	40,0 × 14,0 (36—43 × 12—15)

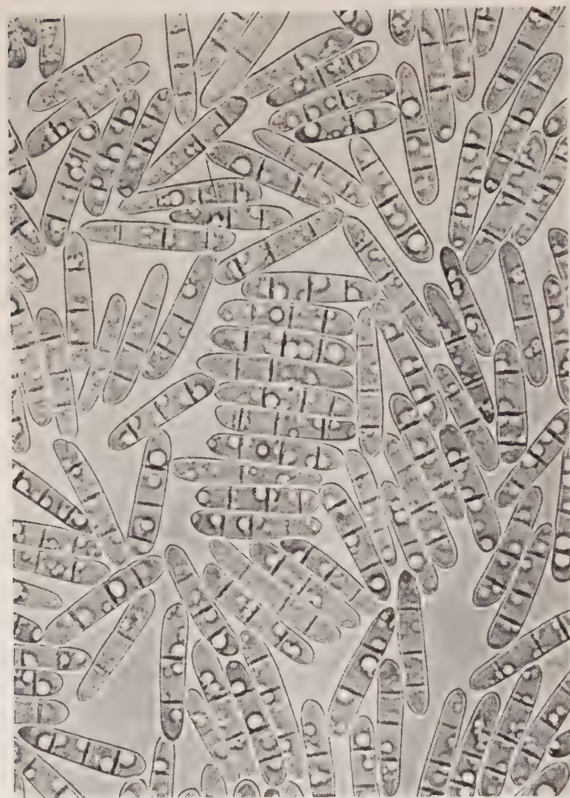


Abb. 6. *Cylindrocarpon radicicola*, sehr typische und einheitliche Sporenprobe von einem Sporodochium einer sechs Wochen alten Erstkultur auf Gerstenähre (500 : 1)

Sklerotien, wie sie bei anderen *Cylindrocarpon*-Arten teilweise recht häufig und charakteristisch ausgebildet werden, fehlen meistens bei *C. radicicola*. Häufiger kommen gallertige oder etwas festere, plectenchymatische Stromata vor.

Einen Überblick über die Morphologie von *C. radicicola* gibt Abb. 7.

Neben der Grundart sind bis heute noch zwei Varietäten beschrieben worden: *C. radicicola* var. *crassum* WR. (20, S. 495) und var. *violaceum* HOCHAPFEL (20, S. 494), von denen sich die eine durch längere und dickere Makrokonidien, die andere durch etwas kleinere Sporen und inkarnatrote-violette Stromafarbtöne vom Typus unterscheidet. Inwieweit diese Varietäten zu Recht bestehen und ob eine aus Finnland zugeschickte Isolierung von Möhre mit wesentlich kleineren und stärker gekrümmten Sporen vielleicht ebenfalls von der Grundart abgetrennt werden muß, kann erst nach weiteren Untersuchungen an umfangreicherem Material entschieden werden.

Zusammenfassung

Es werden mehrjährige Beobachtungen über *Cylindrocarpon radicicola* WR. als Krankheitserreger an *Cyclamen persicum* mitgeteilt und die Befallsbilder näher geschildert.

Die Pathogenität des Pilzes ist in künstlichen Infektionsversuchen nachgewiesen worden.

Die morphologischen Merkmale des Erregers und sein Verhalten in Kultur werden auf Grund von Beobachtungen an 14 verschiedenen Pilzherkünften eingehend beschrieben und die taxonomischen Verhältnisse bei *C. radicicola* kurz erörtert.



Abb. 7. *Cylindrocarpon radicicola* Wr.

A. Sporenträger mit Mikro- und Makrokonidien.
B. Durchschnittliche Sporenprobe mit Mikro- und Makrokonidien.
C. Auskeimende und anastomosierende Konidien.
D. Chlamydosporen in Konidien.
E. Chlamydosporen im Myzel (500 : 1)

Literaturverzeichnis

*1. BEAUMONT, A., 1950: *Narcissus* varieties and their susceptibility to pests and diseases. Daffodil and Tulip Yearb. **16**, 75—81. (Ref.: Rev. appl. Myc. **30**, 1951, 160.)

*2. DYER, R. A., 1950: Plant pathology problems in the Union. Fung. S. Afr. **24**, 586—588, 599. (Ref.: Rev. appl. Myc. **29**, 1950, 289—290.)

3. FEEKES, F. H., 1931: Onderzoekingen over schimmelziekten van Bolgewassen. Diss. Baarn, 26—55.

4. GERLACH, W., 1954: Untersuchungen über die Welkekrankheit des Alpenveilchens. Phytopath. Z. **22**, 125—176.

*5. GOVI, G., 1952: Due specie di *Cylindrocarpon* isolate da fruttiferi. Ann. Sper. agr., N. S. **6**, 793—804. (Ref.: Rev. appl. Myc. **32**, 1953, 261.)

*6. GREGORY, P. H., 1932: The *Fusarium* bulb rot of *Narcissus*. Ann. appl. Biol. **19**, 475—514. (Ref.: Rev. appl. Myc. **12**, 1933, 224—225.)

*7. LIHNELL, D., 1945: Försök rörande vissnesjuka hos Azaleor (Experiment relating to *Azalea* wilt disease). Växtskyddsnotiser, Växtskyddanst, Stockholm, 65—69. (Ref.: Rev. appl. Myc. **25**, 1946, 215.)

*8. MARTIN, J. P., 1950: Effects of fumigation and other soil treatments in the greenhouse on the fungus population of an old *Citrus* soil. Soil Sci. **69**, 107—122. (Ref.: appl. Myc. **29**, 1950, 557—558.)

*9. MCWHORTER, F. P., 1947: Scale tip rot of *Lilium longiflorum* in the Pacific Northwest. Plant Dis. Rep. **31**, 159—161. (Ref.: Rev. appl. Myc. **26**, 1947, 398.)

10. NICOT, J., 1951: Revue systématique du genre *Cylindrocarpon* WOLLENWEBER. Rev. de Mycol. **16**, 36—61.

*11. OGILVIE, L., 1937: Some experiments with Lilies. Lily Yearb. R. hort. Soc. **6**, 106—108. (Ref.: Rev. appl. Myc. **17**, 1938, 113.)

12. PAPE, H., 1955: Vortrag, gehalten auf der 31. Tagung des Deutschen Pflanzenschutzdienstes in Kassel.

13. STAHL, M., 1956: Cyclamen-Erkrankung durch den Pilz *Cylindrocarpon radicicola*. Süddeutscher Erwerbsgärtner **10**, 29—30.

*14. VAN DE POL, P. H. und FLIPSE, L. P., 1949: Overzicht van de belangrijkste ziekten en plagen in de tuinbouw in 1948. Maandbl. Landbouw Voorlicht **6**, 107—117. (Ref.: Rev. appl. Myc. **29**, 1950, 141.)

15. VAN HELL, W. F., 1931: Onderzoekingen over ziekten van Lelies. Diss. Utrecht, 116 S.

*16. WEBER, A., 1932: Løgsygdomme (Bulb disesases). Repr. from Aarbog for Gartneri 1931, 19 S. (Ref.: Rev. appl. Myc. **11**, 1932, 460.)

17. WOLLENWEBER, H. W., 1913: *Ramularia, Mycosphaerella, Nectria, Calonectria.* Phytopathology **3**, 196—242.

18. — —, 1917: *Fusaria* autographice delineata. Ann. mycol. **15**, 1—56. Berlin, 1926 bis 1935, 1200 Tafeln.

19. — —, 1926: *Pyrenomyceten*-Studien II. Angew. Bot. **8**, 168—212.

20. — —, 1929: Über Fruchtformen der krebserregenden *Nectriaceen*. Z. Parasitenkde. **1**, 138—173.

21. — —, 1931: *Fusarium*-Monographie. Fungi parasitici et saprophytici. Z. Parasitenkde. **3**, 269—516. Zbl. Bakt. II, **106**, 1943, 104—135 u. 171—202.

22. — —, 1935: Alpenveilchen- (Zyklamen-)Welke, eine Krankheit pilzlicher Natur. Nachr.-Bl. dtsch. Pflanzenschutzd. **15**, 38—39.

23. — — und HOCHAPFEL, H., 1936: Beiträge zur Kenntnis parasitärer und saprophytischer Pilze. III. *Fusarium* und *Cylindrocarpon* und ihre Beziehung zur Fruchtfäule. Z. Pflanzenkrankh. **46**, 534—544.

Die mit * gekennzeichneten Arbeiten lagen nur als Referate vor.

Aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft,
Institut für Bakteriologie, Berlin-Dahlem

Bakteriophagenforschung und Phytopathologie

(Ein Sammelreferat)

Von

H. Stolp

Vor vier Jahrzehnten entdeckten Twort (212) und D'Hérelle (103) unabhängig voneinander lytische Erscheinungen in Bakterienkulturen. Sie stellten fest, daß die bakterienauflösende Wirkung an ein Agens gebunden ist, welches bakteriendichte Filter passiert, für spezifisch empfindliche Bakterien infektiöse Eigenschaften besitzt und sich bei der Zerstörung der Bakterienzellen vermehrt. Eine Nährlösung, die durch Bakterienentwicklung getrübt ist, wird in Gegenwart des lytischen Agens aufgehellt. Das bakterienfreie Filtrat einer lysierten Kultur kann noch in einer Verdünnung von 1 : 100 Millionen und mehr lytische Aktivität besitzen. Auf festem Nährsubstrat tritt seine Wirkung durch die Ausbildung nichtbewachsener Partien, sogenannter „Plaques", in Erscheinung. Die wie ausgefressen erscheinenden Löcher in einem sonst geschlossenen Bakterienrasen mögen D'Hérelle veranlaßt haben, das lytische Prinzip als „Bakteriophage" (BPh) zu bezeichnen (103).

Der Gedanke, die bakterienvernichtende Wirkung der BPh für die Bekämpfung bakterieller Erkrankungen auszunutzen, war für die Anfänge der Phagenforschung richtungweisend (104, 105). Medizinische Bakteriologen sowie Phytopathologen verfolgten das Ziel, eine prophylaktische oder therapeutische Nutzbarmachung zu erreichen, und beschäftigten sich zunächst sehr intensiv mit Phagenerscheinungen. Das Interesse ließ jedoch merklich nach, als die spekulativen Hoffnungen meist enttäuscht wurden und sich die Vorstellung durchsetzte, daß derartige Möglichkeiten nicht so einfach liegen, wie man zunächst angenommen hatte. Als Folge dieser Entwicklung waren die Fortschritte in der Aufklärung des Wesens der Bakteriophagie bis etwa 1940 relativ gering. In dem vergangenen Jahrzehnt hat nun die Phagenforschung, vor allem im Zusammenhang mit der Bearbeitung des Virusproblems, einen ungeahnten Aufschwung genommen. Auf der Suche nach grundlegenden

Informationen über die Natur der Viren haben sich die im angelsächsischen Schrifttum heute meist als „bacterial viruses“ bezeichneten BPh als ideale Versuchsobjekte erwiesen. Das zentrale Problem ist der Reproduktionsmechanismus der Virusteilchen, für dessen Aufklärung die BPh besonders geeignet zu sein scheinen. Die Kenntnis dieses Prozesses würde über die Virusforschung hinaus für das Verständnis der identischen Reproduktion organisierter biologischer Strukturen allgemeine Bedeutung haben.

An die Stelle der therapeutischen Aspekte, die früher im Vordergrund des Interesses standen, sind heute grundsätzliche Fragen über die Beziehungen zwischen BPh und Wirt getreten. Durch die Ergebnisse der rein theoretischen Forschung, insbesondere auf dem Gebiet der Lysogenität, werden aber auch praktisch wichtige Fragen, wie Virulenz und Pathogenität von Bakterien, berührt und in eine neues Licht gerückt. Bei Diphtheriebakterien wurde eine sehr interessante Beziehung zwischen BPh und Toxinbildung entdeckt. Es gelang, avirulente und atoxigene Stämme durch Lysogenisierung in virulente, toxinbildende Stämme zu überführen (88). Für epidemiologische Fragen auch der pflanzlichen Bakteriosen sind Beziehungen dieser Art vielleicht von großer Bedeutung. Daneben eröffnen sich durch die Transformationserscheinungen auf der Grundlage „symbiontischer Phagen“ neue Perspektiven für das Verständnis der Variabilität und die Evolution der Bakterientypen (114).

Gemessen an dem theoretischen Wert, den BPh für die allgemeine Biologie und speziell die Virusforschung besitzen, ist ihre praktische Nutzbarmachung, besonders im Hinblick auf die therapeutischen Möglichkeiten, begrenzt. In einem Verfahren, das als Lysotopie bezeichnet wird und das der Identifizierung und Typisierung von Bakterien dient, haben sie sich als wertvolles Hilfsmittel der Diagnostik erwiesen (11, 51, 52, 53, 48a, 101, 172, 200, 216, 220, 240). Wirtschaftliche Bedeutung besitzen BPh in Betrieben der Milch- und Käse-Industrie, da sie gelegentlich Produktionsstörungen verursachen können, vor allem bei Verwendung von Bakterienreinkulturen. Über dieses Gebiet existiert seit 1945 eine umfangreiche Literatur (132, 142, 237).

Über die Bakteriophagen sind besonders im amerikanischen Schrifttum zahlreiche, dem jeweiligen Stand der Forschung angepaßte Sammelreferate erschienen (5, 6, 57, 76, 78, 83, 114, 134, 164, 191, 192, 206, 227, 229, 233). Auch in den Lehrbüchern der Phagen- und allgemeinen Virusforschung nimmt die Behandlung der BPh einen breiten Raum ein (59, 77, 81, 155, 201, 204, 214). Für das spezielle Gebiet der Phagenerscheinungen bei phytopathogenen Bakterien fehlt eine geschlossene Darstellung, obwohl in den letzten Jahren eine Anzahl wichtiger Arbeiten erschienen ist. Das letzte Sammelreferat wurde 1937, als die Phagenforschung noch in den Anfängen stand, in den USA veröffentlicht (129). Da den BPh phytopathogener Bakterien im Zuge des allgemeinen Aufschwungs der Phagenforschung von einigen Phytopathologen heute wieder größeres Interesse entgegengebracht wird, sollen in dem vorliegenden Übersichtsreferat die Ergebnisse zusammengefaßt werden, die bislang über BPh-Systeme bei phytopathogenen Bakterien bekannt geworden sind. Unser derzeitiges Wissen über BPh beruht fast ausschließlich auf Unter-

suchungen an nicht phytopathogenen Bakterien. Deshalb wird zum besseren Verständnis der speziellen Fragen eine Einführung in die Methoden und Ergebnisse der allgemeinen Phagenforschung vorausgeschickt.

I. Allgemeiner Teil

1. Untersuchungsmethoden

Die Isolierung von BPh wird meist in der Weise durchgeführt, daß sterile Filtrate (im Sinne von bakteriensteril), in denen man Phagen vermutet, einer Bakterienkultur, die sich am Anfang ihrer Entwicklung befindet, zugesetzt werden. Folgt eine Aufhellung der vorher schwach getrübten Lösung, dann ist die Gegenwart von Phagen wahrscheinlich. Durch sterile Filtration der lysierten Bakterienkultur wird eine Lösung mit höherer Phagenkonzentration gewonnen. Da der lytische Effekt in einer von Bakterien bewachsenen Lösung nicht in allen Fällen deutlich in Erscheinung tritt, wird die Beurteilung dafür, ob BPh vorhanden sind oder nicht, durch den „Plattentest“ ergänzt und wesentlich erleichtert. Für seine Ausführung gibt es verschiedene Möglichkeiten:

a) Die Bakterien werden auf festem Nährsubstrat in einer Petrischale ausgespatelt. Im Anschluß daran oder nach einer kurzen Bebrütungszeit werden Tropfen des vermutlich Phagen enthaltenden Filtrats auf den beimpften Nährboden gebracht. Bei Anwesenheit von BPh bleibt an diesen Stellen die Bakterienentwicklung aus. Die Beimpfung der Platte kann ebensogut durch Besprühen oder durch Überfluten mit einer Bakterienaufschwemmung erfolgen. In allen Fällen ist dafür zu sorgen, daß die Oberfläche des Nährbodens vor dem Aufsetzen der Tropfen trocken ist.

b) Die Bakterien werden mit verschiedenen Verdünnungen der Phagen enthaltenden Lösung vermischt und anschließend auf den Nährboden gebracht. Das Vorhandensein eines einzelnen aktiven Phagenteilchens gibt sich durch die Ausbildung eines mehr oder weniger großen „Plaques“ zu erkennen. Bei zu großer Phagenkonzentration gehen die Plaques ineinander über (konfluierende Lysis).

c) Für quantitative Untersuchungen wird meist die sogenannte Doppelschichtmethode angewandt. Sie entspricht im Prinzip dem unter b) angegebenen Verfahren. Der Unterschied liegt darin, daß die Testbakterien zusammen mit dem phagenhaltigen Material in einer dünnen Agarschicht fixiert werden. Man läßt in einer Petrischale zunächst 10 bis 15 ml des zu verwendenden Nährsubstrats (Agarkonzentration 2 %) erstarren und überschichtet anschließend mit 3 bis 4 ml des Bakterien und Phagen enthaltenden Nährbodens gleicher Zusammensetzung (Agarkonzentration 0,8 %). Es entsteht so eine besonders gleichmäßig bewachsene Bakterienschicht, in der die Plaques gut zu erkennen sind. Ihre Größe wird bestimmt durch die Schnelligkeit der zentrifugalen Ausbreitung der BPh,

die bei der geringen Agarkonzentration begünstigt wird. Außerdem steht sie in Beziehung zur Wachstumsrate des Bakterienstammes. Solange die Teilchen mit Bakterien in Kontakt kommen, die sich aktiv vermehren, ist Infektion und Lysis möglich. Treffen die Phagen jedoch auf Bakterien, die sich in einem stoffwechselphysiologisch inaktiven Zustand befinden, dann werden diese nicht lysiert. Die Größe der Plaques wird somit nicht allein durch die Eigenschaften des Phagen bestimmt, sondern auch durch die Zusammensetzung und Konsistenz des Nährbodens sowie die Eigenschaften des Testbakteriums. Unter verschiedenen Versuchsbedingungen können deshalb bei ein und demselben Phagen sehr unterschiedliche Plaquegrößen auftreten. Für die Charakterisierung der Phagentypen wird die Bedeutung der absoluten Plaquegröße häufig überschätzt. Allgemein kann nur gesagt werden, daß kleine BPh wegen ihrer größeren Diffusionsgeschwindigkeit relativ große Plaques bilden.

Bei der Isolierung der Bakteriophagen geht man zweckmäßigerweise von Material aus, das am natürlichen Standort der Bakterien, für die ein Phage isoliert werden soll, zu finden ist. Natursubstrate, in denen Konglomerate von Bakterien vorkommen, haben sich als besonders geeignete Phagenquellen erwiesen. Aus Abwasser, Boden, Fäkalien, Darminhalt, Gewebe-Exsudaten, aus Pflanzenmaterial und tierischen Organen, aus Milchprodukten und nicht zuletzt aus Bakterienkulturen, worauf noch zurückzukommen sein wird, sind BPh für dieses oder jenes Bakterium isoliert worden (100).

Im folgenden werden einige Begriffe definiert, die für die Untersuchungstechnik von Bedeutung sind. Da die Bakteriophagenforschung heute vor allem in den USA intensiv betrieben wird und in den Originalarbeiten meist bestimmte termini technici als bekannt vorausgesetzt werden, wird auch die englische Bezeichnung jeweils in Klammern mit angeführt.

1. Einfachinfektion (single infection): Bakterien nur mit einem einzelnen Phagenteilchen infiziert.
2. Mehrfachinfektion (multiple infection): Bakterien mit mehr als einem Phagenteilchen des gleichen Typs infiziert.
3. Mischinfektion (mixed infection): Infektion mit verschiedenen Phagentypen.
4. Infektionszahl (multiplicity of infection): Das Verhältnis der adsorbierten Phagenteilchen zu der in der Kultur vorhandenen Bakterienzahl. Die ungefähre Infektionszahl ergibt sich aus dem Verhältnis von Phagen zu Bakterien in einer Suspension. Da eine 100%ige Adsorption niemals erreicht wird, muß die tatsächliche Infektionszahl jeweils besonders ermittelt werden.
5. Einstufentechnik (one step growth experiment, 74): Bakterien und Phagen werden in einem bestimmten Verhältnis (Phagen im Überschuß) zusammengebracht. Nach kurzer Zeit, in der die Adsorption der Phagen an die Bakterien erfolgt ist, wird die Suspension so stark verdünnt, daß nur wenige infizierte Bakterien je ml Lösung vorhanden sind. Dann

wird in bestimmten Intervallen eine Probe entnommen, und die Zahl der durch Lysis freigesetzten Teilchen im Plattentest bestimmt. Da den frei gewordenen Phagenteilchen keine weiteren Bakterien zur Verfügung stehen, bleibt die Konzentration der aktiven Partikel konstant, sobald das letzte Bakterium in der Lösung lysiert ist. Die Auswertung des Versuchs läßt sich in einem charakteristischen Kurvenverlauf (one step growth curve) darstellen, aus dem Latenzzeit, Anstiegshöhe und Stufenhöhe zu entnehmen sind.

a) Latenzzeit (latent period): Die Zeit zwischen Infektion und Lysisbeginn.

b) Anstiegszeit (rise period): Die Zeit zwischen Anfang und Ende der Lysis.

c) Stufenhöhe (step size): Verhältnis von Plaquezahl am Ende des Versuchs zu der bei Beginn.

Aus der Stufenhöhe ergibt sich die

d) Durchschnittsausbeute (average burst size): Die durchschnittlich je Bakterium freigesetzte Phagenzahl.

Daneben wird gelegentlich zur Charakterisierung eines Systems und besonders für genetische Untersuchungen nach einer anderen Methode die

e) Einzelausbeute (single oder individual burst size) ermittelt, d. h. die Anzahl der von einem bestimmten einzelnen Bakterium freigesetzten Bakteriophagen (38).

Der Titer einer Phagenlösung wird durch Verdünnung im Plattentest bestimmt. Wenn Y Plaques auftreten bei einem Volumen V (ml) und einer Verdünnung von Z, dann ist der Titer n je 1 ml

$$n = \frac{Y}{V \cdot Z}$$

Die Plaquezählmethode ist auch für quantitative Virusuntersuchungen in Gewebekulturen anwendbar (24, 70, 70a, 141).

Für die Erforschung der BPh werden heute die modernsten Untersuchungsmethoden eingesetzt. Elektronenmikroskop, Ultrazentrifuge, Ultrafiltration, Chromatographie, Elektrophorese und Isotopentechnik haben den Fortschritt unseres Wissens wesentlich bestimmt.

2. Freie Phagen

Obwohl die Erscheinung der Bakteriophagie bei zahlreichen Bakterien beobachtet worden ist, hat sich das Studium meist auf die T-Phagen von Escherichia coli (T type) beschränkt. Es handelt sich dabei um eine Gruppe von sieben Phagen, die alle gegen den Stamm B von E. coli aktiv sind (5). Bei Spirochäten, Myxobakterien[1]), Eisen-, Schwefel- und nitrifizierenden Bak-

[1]) Während der Drucklegung ist eine Arbeit über BPh bei dem Myxobakterium *Chondrococcus columnaris* erschienen (3 a).

terien sind bislang keine BPh bekannt geworden (155). Vielleicht hat das nur arbeitstechnische Gründe, denn unter den gut kultivierbaren Bakterien gibt es kaum eine Gruppe, bei der nicht BPh beobachtet worden sind. Auch bei Actinomyceten sind Phagenerscheinungen bekannt; das lytische Prinzip wird als Actinophage bezeichnet (3, 16, 41, 130, 181, 182, 196, 197, 199, 205, 239, 246). Außer den Coliphagen sind Phagen von *Bacillus megaterium* (90, 91), *Salmonella typhi* (4), *Bac. mycoides* (9, 10), *Serratia marcescens* (= *B. prodigiosum*) (1, 221), *Pseudomonas pyocyanea* (63, 65), Staphylococcen (118), *Bac. polymyxa* (85), *Corynebacterium diphtheriae* (15, 88, 89, 96, 97, 98, 113, 114, 115, 116, 117, 186) und eine Anzahl phytopathogener Bakterien, mit denen sich der II. Teil dieser Arbeit eingehend befaßt, näher untersucht worden. Bei anaeroben Bakterien sind ebenfalls BPh bekannt (49a, 73, 99). Da durch das besondere Interesse an den Coliphagen andere Systeme zwangsläufig vernachlässigt worden sind, ist das Studium weiterer Phagen-Wirt-Systeme im Hinblick auf die Berechtigung einer Verallgemeinerung der Befunde notwendig.

Die Morphologie der BPh konnte durch elektronenoptische Untersuchungen aufgeklärt werden (157). Es handelt sich um distinkte Teilchen in der Größenordnung von 10 bis 150 mμ. Viele sollen eine hexagonale Konfiguration besitzen. Auch für die „Köpfe“ der T-Phagen, die im übrigen noch einen schwanzförmigen Anhang haben (242), gilt sie als charakteristisch.

Chemisch gesehen sind Phagen, ebenso wie Viren, Nukleoproteide (95). Sie enthalten Desoxyribonucleinsäure (DNS) und Protein. Beim intakten Phagenteilchen ist die DNS gegenüber Desoxyribonuclease resistent (106); ein Abbau erfolgt erst dann, wenn sie z. B. durch osmotischen Schock freigesetzt worden ist.

Nachdem es STANLEY gelungen war, das Tabakmosaikvirus als einheitliches Protein darzustellen (207), und wenig später die Gewinnung eines Virus in völlig kristallinem Zustand gelang (14), konnte NORTHROP (183) erstmalig einen Staphylococcenphagen in Form eines Nucleoproteids darstellen.

Während die Mehrzahl der untersuchten BPh nur DNS und Protein enthalten, sind bei einigen auch Ribonucleinsäure (RNS) und Lipoide in geringer Menge festgestellt worden (107).

BPh gelten als gute Antigene. Ihre Hülle ist der Sitz der antigenen Eigenschaften (110). Die geradzahligen T-Phagen von *E. coli* sind serologisch verwandt (57). Phagenstämme, die für das gleiche Bakterium infektiös sind, können aber auch verschiedenen serologischen Gruppen angehören. Die serologische Analyse stellt ein sehr empfindliches chemisches Werkzeug dar und ist die einzig zuverlässige Basis für eine Klassifizierung der BPh. Mutationen mit Änderungen der antigenen Eigenschaften sind bislang nicht beobachtet worden. Ist ein Phagenteilchen bereits an eine Bakterienzelle adsorbiert, dann wird seine Vermehrung durch nachträgliche Antiserumbehandlung nicht mehr gehemmt (55). Ein Bakterienantiserum ist nicht gleichzeitig gegen die für das Bakterium spezifischen Phagen wirksam.

3. Die Vermehrung der Bakteriophagen

Wenn ein Bakterium von einem Phagenpartikel infiziert wird, kann schon nach einigen Minuten (bei T 3 13 Min.) die Lysis des Bakteriums und die Freilassung von mehreren hundert Tochterphagen erfolgen. Die Infektiosität der BPh wird, wie bei den Viren, weder durch fraktionierte Umkristallisation noch durch Ultrafiltration beeinträchtigt. Die entscheidende Frage bei der Vermehrung ist die, wie das infizierende Teilchen die Bakterienenzyme so kontrollieren kann, daß die Energie- und Stoffwechselsysteme der infizierten Zelle auf die Replikation des infizierenden Partikels gerichtet werden. Hiermit eng verbunden ist die Frage: Was bestimmt die Fähigkeit, sich in einem Zelltyp zu vermehren, in einem anderen aber nicht? Denn die Spezifität der BPh reicht bis zu individuellen Bakterienstämmen.

Man unterscheidet zwei Haupttypen der Phagen-Wirt-Beziehung:

1. Die lytische Beziehung (lytische Phagen), über die bisher am meisten bekannt ist, und
2. die lysogene Beziehung (temperierte Phagen), die darin besteht, daß ein BPh von einem Bakterium inkorporiert werden kann, ohne dessen Lysis zu verursachen. In einer auf diesem Wege symbiontisch infizierten Kultur setzt ein sehr geringer Teil der Bakterien spontan durch Lysis Phagen frei. Diese greifen den Elternstamm jedoch nicht an, sondern sind nur für einen „passenden" sensiblen Stamm aktiv. Für die Aufklärung der Natur der BPh hat gerade die lysogene Beziehung wesentliche Beiträge geliefert. Die hiermit zusammenhängenden Fragen werden später eingehend behandelt.

Bei dem zur Lysis führenden Prozeß können verschiedene Stadien abgegrenzt werden:

a) Adsorption

Nahezu jeder Zusammenstoß zwischen Phage und Wirt führt, soweit sie zueinander passen, zu einer spezifischen Bindung. Sie erfolgt in zwei Hauptschritten. Der erste ist temperaturunabhängig und durch gewisse Eingriffe reversibel. Wahrscheinlich sind bei diesem Vorgang rein elektrostatische Kräfte entscheidend. Der zweite Schritt ist temperaturabhängig, irreversibel und geht vermutlich mit enzymatisch kontrollierten chemischen Reaktionen einher. In welcher Weise Stoffwechselvorgänge der Bakterien an dem Prozeß der irreversiblen Bindung beteiligt sind, ist noch nicht im einzelnen geklärt.

Der Adsorptionsmechanismus steht in Beziehung zu den Ionen in der Lösung, wobei Calcium und Eisen eine besondere Rolle spielen (80, 120, 188, 189, 190, 198). Für die Adsorption an der Bakterienoberfläche werden bestimmte Rezeptororte mit besonderen chemischen Eigenschaften (Lipoglycoproteide) verantwortlich gemacht (231, 232). Es ist gelungen, aktive Phagen in vitro irreversibel und spezifisch mit Bakterienextrakten zu vereinigen (228) und die chemischen Besonderheiten der Rezeptorsubstanz bei sensiblen und

resistenten Bakterien aufzuklären (230). Für die Adsorption von T 4 und T 6 ist L-Tryptophan als Cofaktor notwendig. Indol übt als analoge Verbindung des Tryptophans eine kompetitive Hemmung aus (58).

Da auch tote oder ruhende Zellen und selbst zellfreie Präparationen, welche „Rezeptorkomponenten“ der Bakterienmembran enthalten, BPh adsorbieren können, hat der Adsorptionsprozeß an sich mit der späteren Synthese neuer Phagenpartikel nichts zu tun (94, 144, 228). Für die Vermehrung ist also nicht allein die Adsorption ausschlaggebend. Auch durch Röntgenstrahlen inaktivierte BPh, die unfähig sind, Bakterien zu töten und sich zu vermehren, können noch adsorbiert werden (222).

Wird eine Population von empfindlichen Bakterien spezifisch aktiven Phagen ausgesetzt, dann ist nach erfolgter Lysis häufig sekundäres Bakterienwachstum zu beobachten. Auf diese Erscheinung, das Aufkommen resistenter Formen und seine Bedeutung für die Evolution der Bakterienvarianten, wird im Zusammenhang mit den Fragen der Phagen- und Bakteriengenetik noch näher eingegangen. Bei *E. coli* Stamm B ist die Resistenz gegenüber T-Phagen stets mit der Unfähigkeit zur Adsorption verknüpft und steht zu chemischen Veränderungen der Rezeptorsubstanz an der Bakterienoberfläche in Beziehung (230).

b) Verschmelzung

Nach der äußeren Anheftung der Phagenteilchen kommt es zur Verschmelzung von Phagenmaterial mit dem infizierten Bakterium. Für die T-Phagen ist folgende Vorstellung entwickelt worden: Der Phage heftet sich mit der Spitze des schwanzförmigen Fortsatzes an die Oberfläche des Bakteriums (157). Die DNS wird darauf wie mit einer Injektionskanüle in das Cytoplasma der Zelle injiziert. Die Hülle des Phagen bleibt außerhalb der Zelle zurück (110). Das Eindringen der Phagensubstanz verläuft ähnlich wie die Assimilation von anderen hochmolekularen Stoffen. Mit Hilfe von Bakterienenzymen werden niedriger molekulare Verbindungen gebildet, die die Bakterienhülle durchdringen können (133). Bei der Verschmelzung geht das Phagenteilchen als infektiöses Agens verloren und kann auch durch mechanische Zerstörung des Bakteriums nicht wieder gewonnen werden. Bei vorzeitiger (erzwungener) Lysis traten erst nach Ablauf der halben Latenzzeit infektiöse Partikel auf (174). Die Inkubationsperiode, in welcher das Virus nicht mehr oder noch nicht wieder als infektiöses Agens nachweisbar ist, wird als „Eklipse“ bezeichnet und ist wahrscheinlich für alle Virusinfektionen ein charakteristisches Merkmal. Die nicht-infektiöse Form des Phagen wird als „vegetativ“ bezeichnet.

c) Intrazelluläre Vermehrung

Phagen vermehren sich nur in spezifisch empfindlichen Bakterien. Wenn ein Bakterium für mehrere, serologisch nicht miteinander verwandte Phagentypen empfindlich ist, werden nach Mischinfektion nur der eine oder der andere parentale Typ, niemals beide zusammen, geliefert. Diese Interferenz-

erscheinung wird als „gegenseitige Ausschließung (mutual exclusion)" bezeichnet (56, 62, 234). Wenn zwei serologisch verwandte BPh eine Wirtszelle infizieren, werden beide Typen produziert, sofern die Infektion zur gleichen Zeit (simultan) erfolgt (61). Wird der zweite Phage einige Minuten nach dem ersten eingesetzt, so wird er von der Vermehrung ausgeschlossen (69). Die Art der gegenseitigen Beeinflussung bei Mischinfektionen ist für das Studium der Phagen-Wirt-Beziehung sowie für Fragen der Immunität von großer Bedeutung.

Ist die Phagen-DNS erst einmal von der Zelle aufgenommen, dann wird sie zu einem integrierenden funktionellen Zellbestandteil unter Beibehalt der genetischen und biochemischen Individualität. Es wurde schon gesagt, daß das Phagenteilchen nach dem Eindringen in die Zelle seine Infektiosität verliert. In diesem sog. vegetativen Stadium des Lebenszyklus besteht der Phage allein aus DNS. Der Nukleinsäure fällt die Aufgabe zu, der Zelle die notwendigen „Informationen" über den Typ der neu herzustellenden Phagenteilchen zu übermitteln. Der Mechanismus, wie die „Lenkung" des Aufbaus von neuem Phagenmaterial erfolgt, ist in seinen Einzelheiten unbekannt. Über den Mechanismus der „Durchführung" sind jedoch Vorstellungen entwickelt worden (60). Äußerlich ist den infizierten Zellen wenig anzumerken. Die Vermehrung der Phagen soll mit einem graduellen Anschwellen der Bakterienzelle einhergehen (160, 180). Über die chemischen und enzymatischen Änderungen ist nur wenig bekannt. Für die Phagensynthese wird Material der Bakterien und des Mediums eingesetzt (43). Voraussetzung für die Vermehrung ist ein geeigneter physiologischer Zustand der Bakterien, denn in die stationäre Phase der Entwicklung eingetretene Bakterien liefern keine Phagen mehr. Wenn es überhaupt zur Vermehrung kommt, sind die Phagenausbeuten in komplexen Medien allgemein größer als in einfachen Nährsubstraten. Man hat Ausbeuten von wenigen bis zu 1000 Phagen je Bakterium beobachtet. Die Latenzzeit scheint allein von inneren Faktoren abzuhängen und wird durch die Assimilationsprozesse nicht beeinflußt. Sie ändert sich auch nicht mit der Zahl der das Bakterium infizierenden Phagenteilchen. Durch Atmungsblockierung der infizierten Zellen wird die Phagenvermehrung verhindert. Nach Zugabe von BPh bleibt die Atmung bei der im Augenblick der Infektion gegebenen Intensität stehen (44). Bei *E. coli* werden auch unter anaeroben Verhältnissen Phagen synthetisiert (126). Die Materialquellen, aus der sich die Phagennachkommenschaft aufbaut, konnten durch Untersuchungen mit radioaktiven Isotopen ermittelt werden (43). Man stellte u. a. fest, daß die Phagen-DNS während der Infektion teilweise abgebaut wird. Die gesamte DNS der Bakterien ist als potentielles Rohmaterial für die Phagensynthese anzusehen (112). Der größere Teil, 70 bis 80 % des in den BPh enthaltenen Nukleinsäurephosphors, stammt jedoch aus dem die Bakterien umgebenden Medium (44, 131). Die in der Bakterienzelle schon vorhandene RNS soll nicht zu DNS umgebaut werden (170). Der Wirt muß also durch Stoffwechselleistungen den Hauptteil

der Substanzen und Energien liefern, die für die Phagensynthese notwendig sind.

Man muß annehmen, daß durch das Eindringen des Phagen in das Innere der Zelle eine „enzymatische Anarchie" (44) entsteht. Nach der Infektion ist ein starker Aktivitätsanstieg der Desoxyribonuclease zu beobachten (185). Das wesentliche Kennzeichen der Änderung im Bakterienstoffwechsel ist die Unterdrückung der RNS-Bildung zugunsten der Synthese von Phagen-DNS. Dies erfordert eine erhöhte Produktion von Desoxypentose, die durch Änderung des normalen Kohlenwasserstoff- Stoffwechsels der Bakterienzelle erreicht wird. Durch die Infektion wird ein Übergang vom Phospho-gluconat-Abbauweg der Glucose, der zur Ribosesynthese führt, zum glycolytischen Abbauweg, der zur Desoxyribosesynthese führt, induziert (45, 46). Für die Vermehrung der Phagen-DNS ist folgende Vorstellung entwickelt worden (60, 224, 225): Die DNS liegt in Form von Fäden aus zwei Polynucleotidketten vor, die zueinander komplementär sind. Einem Adeninrest der einen Kette entspricht stets ein Thyminrest in der anderen, einem Guaninrest entsprechend ein Cytosinrest. Diese zueinander komplementären Spiralen trennen sich, und jede wird (nach der Matrizentheorie) wieder zu einer Doppelspirale vervollständigt. Es handelt sich also um eine Doppelform zweier Informationsketten, die jede für sich die Synthese einer komplementären und nicht die einer identischen Struktur katalysiert. Im Prinzip werden die Informationen durch eine charakteristische Reihenfolge der vier organischen Basen im Nucleotidmolekül bestimmt. Die hier skizzierte Theorie hat über die Phagen- und Virusforschung hinaus allgemeine Bedeutung für das Phänomen der biologischen Reproduktion. Sie gibt ein Bild von der Entstehung identisch organisierter Strukturen und vermittelt damit auch eine Vorstellung über den Vermehrungsmechanismus der Gene, die als Träger der Vererbung angesehen werden. Daß die Vermehrung spezifischer Partikel nur in einer zellulären Umgebung erfolgt, muß noch einmal betont werden.

Die DNS von T 2, T 4 und T 6 (*E. coli* B) enthält an Stelle von Cytosin 5-Hydroxy-methyl-cytosin (226, 247, 248). Da diese Verbindung normalerweise nicht in den Bakterien synthetisiert wird, ist seine Produktion allein auf den Einfluß der BPh zurückzuführen. Wahrscheinlich werden mit dem Phagen spezifische genetische Determinanten eingeführt, die die Enzymsynthese für die Bildung von 5-Hydroxy-methyl-cytosin induzieren. Die genetische Substanz des Phagen erzwingt somit die Produktion einer ganz bestimmten Verbindung. Für diese Vorstellnug ist der Begriff des „Parasitismus auf genetischer Ebene" geprägt worden (154).

Die Synthese des Virusproteins erfolgt später als die Produktion der Virusnukleinsäure. Durch welche Vorgänge nach der „Reifung" der Phagen die Lysis der Bakterien ausgelöst wird, ist nicht bekannt. Mit besonderer Technik gelang es, intrazelluläre Vorstufen der Phagen nachzuweisen (169, 173). Sie besitzen morphologische Ähnlichkeit mit den leeren Phagenköpfen (145, 174). Wenn eine große Anzahl von Phagen (bei T 2 etwa 200) je Bakterium adsorbiert wird, kann es zur Lysis ohne Phagenvermehrung (lysis from

without) kommen (54, 215), eine Erscheinung, die bei Einfachinfektionen nur gelegentlich bei Energie- und Nährstoffmangel zu beobachten ist.

Die Ausführungen über die Vermehrung der Phagen sollen mit einigen Bemerkungen über die Möglichkeit einer Blockierung der Phagenproduktion abgeschlossen werden, da sie zu der Frage der Chemotherapie von Virusinfektionen in enger Beziehung stehen. Man benutzt heute vielfach BPh als Virusmodelle bei der Prüfung chemotherapeutischer Mittel (117). In die Vermehrung der BPh kann grundsätzlich an zwei Stellen eingegriffen werden:

1. Verhinderung der Adsorption (58),
2. Verhinderung der intrazellulären Vermehrung.

Der letzte Vorgang hat größere Bedeutung. Durch Proflavin (2, 8-Diaminoacridin) konnte in subbakteriostatischen Konzentrationen die Produktion von T 2, T 4, T 5 und T 6 bei *E. coli* B blockiert werden (84). In Gegenwart von Proflavin kommt es zwar zur Lysis der Bakterienzellen, die gebildeten Phagenteilchen sind jedoch unvollständig und nicht infektiös (174). Da die chemische Bekämpfung von Viruserkrankungen sehr aktuell ist, sind in letzter Zeit zahlreiche Untersuchungen über die Wirkung chemischer Verbindungen auf BPh durchgeführt worden (64, 93, 143, 176, 177, 208). Die bei pflanzlichen Virusinfektionen mit Thiouracil teilweise erzielte Hemmwirkung (14a) konnte bei BPh nicht festgestellt werden (117). Sehr interessant ist die Beobachtung, daß Triäthylenmelamin, das auf tierische Tumoren und Leukämien hemmend wirkt, auch BPh inaktivieren kann (194, 195).

Da sich Viren, ganz allgemein gesprochen, dadurch vermehren, daß sie sich in den Stoffwechsel einer Zelle einschalten, wird der weitere Fortschritt auf diesem Gebiet vor allem von seiten der cytochemischen Forschung zu erwarten sein. Für eine Verallgemeinerung der bisher erzielten Ergebnisse sind vorerst noch vergleichende Informationen über die Cytochemie anderer Phagen-Wirt-Systeme notwendig, da unser derzeitiges Wissen fast nur auf den bei Coliphagen gewonnenen Resultaten basiert.

4. Lysogenität und Transformationserscheinungen

A. Lysogenität

Die lytische Beziehung zwischen BPh und Bakterien gibt sich durch die Lysis empfindlicher Bakterienzellen und die Produktion neuer Phagen des gleichen Typs leicht zu erkennen. Die lysogene Beziehung ist schwieriger zu entdecken. Ihr Kennzeichen ist eine versteckte, latente Phageninfektion. Die BPh eines lytischen Systems werden als „virulent“, die eines lysogenen Systems als „temperiert“ bezeichnet. Die in einer lysogenen Zelle latent vorhandene Form des BPh wird auch „Prophage“ genannt (165). In lytischen Systemen produzierte BPh sind gegen den Bakterientyp, in dem sie sich vermehren, aktiv. Lysogene Bakterien sind dagegen für die von ihnen selbst erzeuten BPh immun (39). Sie treten erkennbar erst durch die Wirkung auf einen sensiblen „Indikatorstamm“ in Erscheinung. Aus diesem Grunde kann

man einer normalen Bakterienkultur nicht ohne weiteres ansehen, ob sie lysogen ist oder nicht. Es wäre durchaus denkbar, daß jede Bakterienkultur lysogen ist, daß wir nur nicht in der Lage sind, den lysogenen Zustand wegen Fehlens eines geeigneten Indikatorstammes nachzuweisen. Während bei der lytischen Beziehung nur zwei Komponenten, der BPh und das für diesen empfindliche Bakterium, im Spiele sind, ist für die lysogene Beziehung der Indikatorstamm als dritte Komponente charakteristisch. Gegenüber dem Indikatorstamm verhält sich ein temperierter Phage zum Teil wie ein virulenter Phage: Er lysiert die empfindlichen Zellen und wird dadurch überhaupt erst als BPh im eigentlichen Sinne erkennbar. Die Virulenz steht jedoch auf einem anderen Niveau, denn ein Teil der Bakterien überlebt die Phageneinwirkung und wird dadurch selbst lysogen. Die „temperierte" Virulenz ist an dem Auftreten getrübter Plaques zu erkennen. Plaques mit sekundärem Wachstum brauchen jedoch nicht immer das Ergebnis temperierter Phagen zu sein. In lytischen Systemen handelt es sich meist um das Aufkommen echter Resistenz, auf die im Zusammenhang mit den genetischen Fragen noch zurückzukommen sein wird.

In einer lysogenen Kultur werden spontan durch die Lysis einiger weniger Zellen Phagen freigesetzt. Das Verhältnis von Bakterien zu BPh ist für einen gegebenen lysogenen Stamm meist charakteristisch (20). Jede Zelle ist eine potentielle Phagenquelle (165). Auch doppelt lysogene Stämme, die zwei verschiedene Typen von temperierten Phagen freisetzen, sind bekannt (21, 22). Unter bestimmten Bedingungen reift bei mehrfacher Lysogenie jedoch nur ein bestimmter Phagentyp (19). Die Interferenzerscheinungen sind denen lytischer Systeme sehr ähnlich (122). Wie vielseitig die Beziehungen zwischen BPh und Bakterienzellen sein können, geht aus der Beobachtung hervor, daß lysogene Bakterien wiederum von virulenten Phagen anderen Typs infiziert werden können (234). Gegen den temperierten Phagen, mit dem sie selbst symbiontisch infiziert sind, besitzen lysogene Bakterien jedoch, wie schon erwähnt, Immunität. Während die Fähigkeit zur Bildung von Phagen in der Erbmasse echt lysogener Bakterien verankert ist (33, 238), hängt die Wirkung des freigesetzten temperierten Phagenteilchens wahrscheinlich von dem physiologischen Zustand des zu infizierenden Testbakteriums ab. In einigen Fällen wurde bei niedriger Temperatur das Lysogenwerden begünstigt (23). Andererseits konnte durch Milchsäure, Brenztraubensäure und ähnliche Verbindungen die Rate der lysogen werdenden Bakterien herabgesetzt werden (166). Die Vorstellungen über die Frage, warum ein von lysogenen Bakterien gebildeter Phage die Indikatorzelle symbiontisch oder lytisch infiziert, gehen auseinander (30, 164). Unabhängig von der Ursache stellt dieser Phasenwechsel einen Mechanismus dar, der für das Überleben der Phagen eine sehr wichtige Rolle spielt (32). Lysogene Bakterien sind wahrscheinlich das natürliche Reservoir der Phagen. Unter natürlichen Bedingungen sind die Chancen, erhalten zu bleiben, für den lysogenen Zustand auch weit günstiger, da die durch Lysis freigesetzten Phagen von der weiteren Vermehrung ausgeschlossen werden, wenn sie nicht zufällig mit

einem sensiblen Bakterium zusammentreffen. Es gilt auch hier der Grundsatz, daß ein fortwährend zerstörend wirkender Parasit wenig Aussicht hat, zu überleben. Die lytischen Phagen stellen gewissermaßen die virulente oder destruktive Phase des Phagen dar. Sie entsprechen der krankheitserregenden Phase pflanzlicher und tierischer Viren. Die kontinuierliche Existenz wird dagegen durch die lysogene Beziehung gewährleistet. Bei tierischen und pflanzlichen Virosen sind ebenfalls latente Viren bekannt (17, 210, 211). Die Lysogenität wird deshalb auch mit Träger- und Ausscheiderphänomenen bei Viren in Verbindung gebracht (229).

Symbiontisch infizierte Bakterien geben die Fähigkeit zur Produktion von BPh bei der Zellteilung weiter. Die Lysogenität hat damit genetischen Charakter. Für das Bakterium bedeutet sie einen potentiellen Letalfaktor. Wird ein lysogenes Bakterium mechanisch zertrümmert, dann werden keine infektiösen Partikel frei. Der lysogene Zustand wird also in einer nichtinfektiösen Form weitergegeben. Der Prophage verhält sich wie ein zu der Zelle gehörender Bestandteil, kann aber zu einem destruktiven Element werden und die Lysis der Zelle verursachen. Wäre die Integration vollständig und würde nicht gelegentlich ein Prophage „durchgehen", sich vermehren und die Zelle lysieren, dann könnte der lysogene Charakter einer Bakterienkultur überhaupt nicht in Erscheinung treten und erkannt werden. Freie Phagen sind gewöhnlich hitzeresistenter als symbiontische Phagen, die den thermalen Tötungspunkt ihrer Wirtsbakterien annehmen. Wegen der sehr engen Beziehung zum Wirt muß vermutet werden, daß das genetische Material der symbiontischen Phagen dem des Wirtes weitgehend homolog ist. Durch die Existenz der Lysogenie werden die Vorstellungen gestützt, nach denen phylogenetisch eine Abstammung des Virus von Bestandteilen der Wirtszelle bestehen soll (243, 244). Erstmalig wurde die Gentheorie der BPh von WOLLMANN vertreten.

Obwohl schon 1922 lysogene Bakterienkulturen beobachtet wurden (149, 150), ist erst in den letzten Jahren, besonders durch die LWOFFschen Untersuchungen eines lysogenen Stammes von *Bac. megaterium* (164, 165), ein tieferer Einblick in das Wesen der lysogenen Beziehung möglich geworden. Weitere Beiträge über die Erscheinung der Lysogenie verdanken wir Untersuchungen des lysogenen K 12-Stammes von *E. coli* (146, 147).

Die in geringem Umfange spontan auftretende Lysis lysogener Bakterienzellen kann durch verschiedene Maßnahmen verstärkt werden (137, 163). Eine Induktion ist möglich durch Bestrahlung der Bakterien (UV-, Röntgen- 137, 171, γ-Strahlung 164) sowie durch Einwirkung verschiedener chemischer Substanzen: Thiomalonsäure, H_2O_2, Glutathion und Ascorbinsäure (167), organische Peroxyde, Aethylenimine (166), Stickstoff-Lost (122, 241) und andere Verbindungen (28, 123, 166). Nach der Bestrahlung mit UV-Licht erfolgt in fast der gesamten Bakterienpopulation Lysis unter Phagenbildung, wenn die Bakterien überhaupt induzierbar sind und sich zum Zeitpunkt der Bestrahlung in einem geeigneten physiologischen Zustand befinden. Besonders wirksam ist UV-Licht von 2537 Å Wellenlänge (168). An dieser Stelle des

Spektrums liegt auch die maximale UV-Absorption von Nukleinsäuren (249). Bestrahlungseffekte können unter bestimmten Bedingungen rückgängig gemacht werden (z. B. Photoreaktivierung durch sichtbares Licht). Die induzierenden Agentien besitzen meist auch mutagene und carcinogene Wirkung (34, 164). Vielleicht ergeben sich aus der Möglichkeit, lysogene Bakterien mit carcinogenen Substanzen zu induzieren, neue Perspektiven für die Aufklärung des Wirkungsmechanismus krebserzeugender Agentien.

Viele Teilvorgänge der Phagenvermehrung in induzierten lysogenen Bakterien stimmen mit denen überein, die nach Infektion nicht-lysogener Bakterien mit virulenten Phagen beobachtet werden. Die Latenzperiode, hier die Zeit vom Induktionsschock bis zur Freisetzung der Phagen, ist jedoch allgemein länger. Auch in chemischer und enzymatischer Hinsicht bestehen gewisse Unterschiede. Im Gegensatz zu den Verhältnissen bei lytischen Systemen nimmt die O_2-Aufnahme nach der Induktion weiter zu, die Synthese von RNS wird fortgesetzt, und adaptative Enzymbildung ist möglich (203).

Nicht alle lysogenen Stämme reagieren auf einen Induktionsschock mit der Freilassung von BPh. Die Fähigkeit, induziert zu werden, hängt bei induzierbaren Stämmen außerdem von dem Ernährungszustand im Augenblick der Behandlung sowie den Ernährungsbedingungen nach dem Induktionsschock ab (29, 161). Zweiwertige Kationen spielen bei der Induktion eine ähnliche Rolle wie bei der Adsorption virulenter Phagen an sensible Bakterien (162).

Durch fortgesetzte Passage in citrathaltigem Medium ist es gelungen, einen lysogenen Stamm von der Lysogenie zu „heilen“ (42). Mit dem Verlust der Lysogenität war der Verlust der Immunität gekoppelt. Der symbiontische Phage ist demnach der Faktor, der allein für die Immunität gegenüber demselben freien und virulenten Phagen verantwortlich ist. Im Lichte dieser Befunde ist die bekannte Resistenz nach überstandenen Virusinfektionen dahingehend interpretiert worden (32), daß nach der Erkrankung eine symbiotische Infektion zurückbleibt, die den erneuten Eintritt aktiver Viruspartikel verhindert. Wenn die an BPh gewonnenen Erkenntnisse eine Ausweitung auf pflanzliche und tierische Viren zulassen, dann würden sich mit dieser Betrachtungsweise für die gesamte Virusforschung neue Ausblicke ergeben.

Mutationen, die einen temperierten in einen virulenten Phagen überführen, sind relativ häufig und bei allen temperierten Phagen beobachtet worden (20, 31). Über den umgekehrten Fall wurde bislang nur einmal berichtet (31). Wenn die Erfahrung bestätigt, daß von allen symbiotischen Phagen stabile lytische Varianten zu erhalten sind, dann liegt es nahe anzunehmen, daß alle lytisch infizierenden Phagen ursprünglich aus symbiontisch infizierten Bakterien stammen. Die lytische und symbiontische Phase ständen damit in engster Beziehung.

Der echten Lysogenität steht eine scheinbare gegenüber. Den Beweis für das Vorliegen echter Lysogenie hat man bei dem sporenbildenden *Bac.*

megaterium dadurch führen können, daß es gelang, aus erhitzten Sporen, die eine höhere Thermoresistenz besitzen als die in der lysogenen Kultur freigesetzten BPh, wieder lysogene Stämme zu erhalten (40). Bei fortlaufender Züchtung lysogener Bakterien in Gegenwart von Phagenantiserum muß außerdem ein echt lysogener Stamm lysogen bleiben. Scheinbare Lysogenität zeigen sog. Trägerstämme (carrier strains). Es handelt sich dabei um ein Gemisch aus Bakterien und Phagen. Das sterile Filtrat solcher Stämme besitzt lytische Aktivität gegen empfindliche Bakterien. Ist der Trägerstamm selbst empfindlich, dann ist von vornherein erwiesen, daß es sich nicht um eine echte Lysogenität handeln kann. Wenn die empfindlichen Bakterien trotz der Gegenwart aktiver Phagen zur Entwicklung kommen, so liegt es daran, daß die Phagenproduktion mit der Bakterienvermehrung nicht Schritt hält (z. B. bei langer Latenzzeit, niedriger Phagenausbeute und schneller Generationsfolge der Bakterien). Ist der Trägerstamm selbst resistent, dann muß die Vermehrung der Phagen auf der Lysis durch Mutation entstandener, sensibel gewordener Zellen beruhen. In diesem Falle ist die Entscheidung über die Art der vorliegenden Lysogenität schwieriger.

Es gibt Bakterienstämme, die sich durch die Produktion von sog. Bacteriocinen auszeichnen, welche für andere Stämme tödlich wirken können. Die Bildung dieser Substanzen verläuft ähnlich wie die Bildung temperierter Phagen (87). Ihre Biosynthese ist wie bei der Lysogenität für die produzierenden Bakterien letal (125). Die Adsorption an empfindliche Zellen wird wie bei BPh durch spezifische Rezeptoren kontrolliert. Nach der Art der sie bildenden Bakterien unterscheidet man Colicine (92), Megacine (121) usw. Es handelt sich chemisch um hochmolekulare Proteine. Sie enthalten keine Nukleinsäure. Die bacteriocinogenen Stämme können wie lysogene Bakterien durch UV-Licht induziert werden (124, 138). Während BPh in den von ihnen getöteten Bakterien reproduziert werden, ist das bei Bacteriocinen nicht der Fall. Die zur Bildung befähigten Bakterien besitzen aber, ganz analog zu lysogenen Bakterien, die erbliche Eigenschaft, das Bacteriocin zu produzieren.

B. Transformationserscheinungen

Wenn ein Bakterium unter der Einwirkung eines temperierten Phagen lysogen wird, erwirbt es mit diesem Zustand die Immunität gegen den virulenten Phagen des gleichen Typs. Es nimmt damit in diesem Punkt die Eigenschaft derjenigen Bakterien an, dem der temperierte Phage entstammt. Mit dem Erwerb des lysogenen Zustandes können aber auch bestimmte andere Eigenschaften gekoppelt sein, die von großer theoretischer und praktischer Bedeutung sind (75, 206). Bei *Corynebact. diphtheriae* wurde ein Zusammenhang zwischen Lysogenität und Toxinbildung entdeckt (15, 88, 89, 96, 97, 98, 113, 114, 116, 117, 135). Wurden temperierte Phagen von lysogenen Stämmen, die gleichzeitig virulent und toxigen waren, gegen avirulente, nicht-toxigene Stämme eingesetzt, dann wurden diese lysogenisiert und erwarben die Fähigkeit zur Toxinbildung. Obwohl diese Beziehung nicht in allen Fällen auftrat (116), ist die Erscheinung für die Frage nach der Natur

der Virulenz und Pathogenität sowie die Aufklärung plötzlich zu beobachtender Virulenzänderungen sehr bemerkenswert. Es bleibt abzuwarten, ob bei anderen pathogenen Bakterien ähnliche Beziehungen entdeckt werden.

Bei einer Thymin bedürftigen Mutanten von *E. coli* wurde nach Infektion mit T 2 der Verlust des Thyminbedürfnisses festgestellt (12, 45). Auch ein Zusammenhang zwischen Lysogenität und dem Erwerb veränderter Koloniemerkmale konnte beobachtet werden.

Die Konzeption der Lysogenie kann auf Situationen ausgedehnt werden, in denen Bakterien „Phagen" freisetzen, die überhaupt keine lytische Wirkung mehr besitzen. Solche nicht lytischen Agentien können nur dann entdeckt werden, wenn sie mit erkennbaren Änderungen morphologischer oder physiologischer Eigenschaften der Bakterien gekoppelt sind. Diese Art „Phagen" würde ausschließlich als Transformationsprinzip angesprochen werden dürfen. Erscheinungen ähnlicher Art sind bei Pneumococcen bekannt. Durch Behandlung von R- (rough) Kulturen mit Extrakten aus S- (smooth) Kulturen konnten diese in S-Kulturen überführt werden. Das Transformationsagens war in der DNS-Fraktion der Extrakte enthalten (8). Bei Pneumococcen gelang auch die Transformierung von Penicillin-Resistenz durch Behandlung mit DNS aus resistenten Organismen (119). Transformationen bei Salmonellen sind für fermentative und antigene Eigenschaften sowie Sensibilität und Resistenz gegenüber chemischen Agentien festgestellt worden (13, 72, 213, 250).

In Anlehnung an die beobachteten Transformationsphänomene ist von HEWITT (114) eine Vorstellung über die Ursachen der mannigfaltigen Variabilität bei Bakterienstämmen entwickelt worden. Danach zeigen Bakterien- und Phagenevolution komplementären Charakter. Die Eigenschaften der Bakterien können auf zwei Wegen kontrolliert werden:

1. Selektionierung phagenresistenter Typen (175).
2. Symbiontische Infektion mit Übertragung genetisch fixierter Eigenschaften.

Letzten Endes liegt der Grund für die Variabilität in dem Auftreten von Spontanmutationen, auf die noch zurückzukommen sein wird.

Eine sehr interessante Erscheinung ist die der Autoadaptation von BPh (115). Es handelt sich um die Entwicklung von Phagenmutanten, die den parentalen Bakterienstamm angreifen. Mit der Autoadaptation werden Beobachtungen in Zusammenhang gebracht, wonach die Verimpfung alter Bakterienkulturen zu Subkulturen mit völlig veränderten Eigenschaften führt.

Abschließend sollen nun noch einmal die verschiedenen Typen von Partikeln zusammengefaßt werden, die von Bakterien produziert werden können (164):

1. nicht-letal und nicht-infektiös: normale Partikel,
2. nicht-letal und infektiös: Transformationsprinzipien,
3. letal und infektiös: Bakteriophagen,
4. letal und nicht-infektiös: Bacteriocine.

5. Genetik der Bakteriophagen

Wenn man die Nachkommenschaft eines einzelnen Phagenteilchens, z. B. die in einem Plaque vorliegende Phagenpopulation, näher untersucht, stellt sich heraus, daß sie nicht einheitlich ist. Neben dem Ausgangstyp können sich in geringer Zahl Teilchen mit veränderten Eigenschaften finden. Es handelt sich um spontan aufgetretene Mutanten. Je verfeinerter und je vielseitiger die Testmethoden für die Feststellung irgendwelcher Unterschiede sind, um so mehr Mutanten werden entdeckt. In den meisten Fällen beschränkt man sich darauf, zu ermitteln, ob in der Nachkommenschaft

1. Infektiositätsmutanten (host range mutants), die gegen andere Stämme aktiv sind (152), oder
2. Plaque-Typ-Mutanten, die sich durch morphologisch unterschiedliche Plaque-Ausbildung zu erkennen geben, vorhanden sind (109).

Bei den letzteren unterscheidet man unter anderem: r-Typen (von rapid lysis), m-Typen (von minute plaques), tu-Typen (von turbid halo). Die Differenzierung der Plaque-Varianten kann durch Verwendung von Farbindikatorplatten erleichtert werden (35, 193).

Mutationen erfolgen vermutlich nur während der intrazellulären Vermehrung der Phagen. Die in einer Suspension vorliegenden freien Partikel mutieren nicht.

Bei Mischinfektionen treten in der Nachkommenschaft Rekombinanten auf (7, 36, 37, 61, 108, 111). Sie wurden bei allen T-Phagen von *E. coli* beobachtet. Es konnte der Nachweis geführt werden, daß die Rekombinationen im nicht-infektiösen Stadium, also zwischen Infektion und dem ersten Auftreten von BPh, entstehen (66). Dies berechtigt zu der Annahme, daß sich der Austausch an den Nukleinsäuremolekülen selbst abspielt. Die Verteilung der genetischen Determinanten erfolgt mit unterschiedlicher Häufigkeit, woraus man auf Kopplungsgruppen mit linearer Anordnung der einzelnen Determinanten (loci) im Sinne der Chromosomengenetik geschlossen hat. Die fadenförmige Gestalt der Phagennukleinsäure bildet die morphologische Grundlage für die Vorstellung der linearen Genanordnung. In Analogie zu höheren Organismen kann man annehmen, daß die Bedeutung der Rekombination darin besteht, die Häufigkeit genetisch verschiedener Typen zu vergrößern.

In dem Phagenmaterial eines Stammes treten vereinzelt Varianten auf, die gegen resistente, von dem parentalen Stamm abgeleitete Bakterien aktiv sind (86, 156). Dieser Tatsache kommt evolutionistische Bedeutung zu. Sie ist Ursache für die sich gegenseitig bedingende Bakterien- und Phagenevolution, auf die im Zusammenhang mit den Transformationserscheinungen schon hingewiesen wurde. Soweit es lytische Systeme betrifft, muß man sich den Entwicklungsablauf etwa wie folgt vorstellen: Sensible Bakterien werden von spezifischen Phagen lysiert — durch Mutation entstehen resistente Bakterien, die selektioniert werden — unter den Phagen, die nach der Lysis des sensiblen Stammes freigesetzt worden sind, befinden sich einige durch Mutation

entstandene Partikel, die ihrerseits gegen den selektionierten, bis dahin resistenten Bakterientyp aktiv sind — und bei der Lysis dieses Bakterientyps wiederholt sich der Kreislauf des Prozesses.

Unter natürlichen Bedingungen werden die einzelnen Typen nicht vollständig eliminiert. Es stellt sich vielmehr ein dynamisches Gleichgewicht ein, das durch eine Vielzahl von Bakterien- und Phagentypen (bei ein und derselben Spezies) charakterisiert ist. Auch unter Laboratoriumsbedingungen kann es zur Ausbildung einer Art von „äußerem Gleichgewicht" kommen: So treten in den Plaques häufig Sekundärkolonien auf, die nicht von resistenten, sondern merkwürdigerweise von sensiblen Bakterien gebildet werden (32, 151). Selbstverständlich ist der durch BPh bedingte Selektionsmechanismus nicht der einzige, auf dem die Mannigfaltigkeit der Bakterientypen beruht. Es wurde schon erwähnt, daß auch über den Weg der symbiontischen Infektion die Variabilität kontrolliert werden kann.

Vorausetzung für die Inkonstanz sowohl der Bakterien als auch der Phagen ist die natürliche Mutabilität. Sie tritt besonders auffallend bei großen Individuenzahlen in Erscheinung. Eine Verhinderung spontaner Mutationen ist bislang und wahrscheinlich überhaupt nicht möglich. Bei Anwendung genetischer Kriterien müssen deshalb Reinkulturen von Bakterien grundsätzlich als „erblich nicht rein" angesehen werden (102). Durch Änderung des Milieus gelingt es, diese oder jene Mutante, auch ohne die Beteiligung durch BPh, zu selektionieren und zu einer Kultur mit veränderten Eigenschaften zu kommen.

Die bisher bei Phagen aufgetretenen Mutanten zeigen keine Änderung hinsichtlich ihrer morphologischen Ausbildung oder serologischen Spezifität.

Bei allen Viren ist eine starke Mutabilität festzustellen. Sie hat große praktische Bedeutung, weil die Mutanten in ihren pathogenen Potenzen oft gefährlicher als die Stammformen sind (25).

6. Strahlenwirkungen

Bei der Besprechung der Lysogenität ist bereits erwähnt worden, daß durch UV-Licht (sowie andere Strahlen) die Phagensynthese in lysogenen Bakterien induziert werden kann. Die für eine Induktion benötigten Strahlenenergien sind kleiner, als sie für die Inaktivierung freier BPh erforderlich sind. Ein Phage wird als „inaktiv" bezeichnet, wenn er nicht mehr die Fähigkeit besitzt, sich in einem sensiblen Wirtsbakterium zu vermehren.

Freie Phagen können durch UV-Licht, ionisierende Strahlung sowie durch chemische Substanzen inaktiviert werden (2, 136, 140, 159, 223). Die Strahlungsinaktivierung ist das Endresultat einer Kette von Ereignissen, die durch Absorption eines einzelnen Energiequantums ausgelöst wird. Durch sichtbares Licht werden die UV-Bestrahlungseffekte z. T. rückgängig gemacht (68). Man nimmt an, daß die UV-Strahlen hoch spezifische photochemische Änderungen hervorrufen, die durch langwelliges UV-Licht oder Licht im sichtbaren Spektrum in einer echten Rückläufigkeit der chemischen Änderung kompensiert werden.

Eine Reaktivierung kann auch dadurch erreicht werden, daß UV-inaktivierte BPh im Überschuß mit Wirtsbakterien zusammengebracht werden. Jedes Bakterium adsorbiert dann mehrere inaktive Phagenpartikel, und von einigen Bakterien werden aktive Phagen gebildet. Reaktivierungserscheinungen dieser Art werden durch Austausch von nicht geschädigten Teilen der inaktiven Partikel untereinander erklärt (multiplicity reactivation, 153, 158).

Vor zwei Jahren wurde von WEIGLE (235, 236) eine dritte Möglichkeit der Reaktivierung entdeckt, die darin besteht, daß das Wirtsbakterium einem Reiz mutagen oder carcinogen wirkender Substanzen ausgesetzt wird. Auch durch Röntgenstrahlen geschädigte Phagen konnten auf diesem Wege reaktiviert werden. Man darf annehmen, daß das genetische Material des Wirtes in der Lage ist, geschädigte Teile des infizierenden BPh zu ersetzen. Diese Möglichkeit der Substitution spricht für eine weitgehende Homologie im genetischen Material von BPh und Wirtszelle und wird für die Theorie der phylogenetischen Abstammung des Virus vom Wirt mit als Beweis herangezogen.

Sobald ein Phage in das Cytoplasma der Bakterienzelle eingedrungen ist, geht er in eine „maskierte“ Form über, die als „Latenz“ bezeichnet wird. Während der ersten Hälfte der Latenzzeit können durch Zerstörung der Bakterien keine infektiösen Partikel freigesetzt werden. Bestrahlungsversuche haben gezeigt, daß sich die Röntgenstrahlenempfindlichkeit während dieser Zeit nicht ändert. Das radiosensible Material des Partikels bleibt also erhalten. Da die indirekt inaktivierende Wirkung bestrahlter Medien z. T. durch Katalase kompensiert werden kann, wird die Beteiligung von freien Radikalen und Peroxyden angenommen (139). Auch die Wirkung der UV-Bestrahlung lysogener Bakterien kann durch nachträgliche Katalasebehandlung aufgehoben werden (209).

7. Bakteriophagentherapie

Nach den heutigen Erkenntnissen dürfte es unmöglich sein, einen Bakteriophagen in die Hand zu bekommen, der für alle Stämme einer bestimmten Bakterienart wirksam ist. Wegen der schon mehrfach erwähnten Spezifität sind die Möglichkeiten der Phagentherapie naturgemäß begrenzt. Bei einer Epidemie müßte zunächst einmal der dem vorherrschenden Bakterienstamm angepaßte BPh isoliert werden, und selbst wenn das gelänge, müßte mit der Selektionierung resistenter Bakterienstämme gerechnet werden. Bei diesem Sachverhalt ist es verständlich, daß die Möglichkeiten der Phagentherapie sehr unterschiedlich beurteilt werden. Einer erfolgreichen Anwendung (47, 48, 82, 105, 127, 128, 178, 187) stehen negative Ergebnisse gegenüber (50, 71, 151, 202). Die meisten Erfahrungen wurden bei der Bekämpfung der Bazillenruhr gewonnen. Das Problem liegt in der Erfassung der lysoresistenten Erregertypen, die durch geeignete Mischung in ihrer Wirkung sich überschneidender Phagentypen gelegentlich erreicht werden konnte (217, 218, 219, 148). Obwohl ein abschließendes Urteil über die Möglichkeiten der

therapeutischen Verwendung von BPh heute noch nicht erlaubt ist, dürften die Aussichten nicht allzu optimistisch beurteilt werden. Auch wenn es gelingen sollte, für bestimmte Krankheitserreger geeignete polyvalente Phagenmischungen herzustellen, muß berücksichtigt werden, daß durch einen Bakterienzerfall größeren Ausmaßes Toxine in Quantitäten frei werden, die eine Verschlimmerung eines an sich schon toxischen Krankheitsbildes befürchten lassen (18).

Auf die Situation bei phytopathogenen Bakterien wird im II. Teil dieser Arbeit eingegangen.

8. Natur und Ursprung der Bakteriophagen

Seit Beginn der Bakteriophagenforschung ist über diese Frage viel diskutiert worden. D'Hérelle selbst war der Meinung, daß es sich bei dem von ihm entdeckten „Phagen" um ein autonomes lebendes Agens handelt (104). Die zahlreichen Vorstellungen von rein spekulativem Charakter, die im Verlauf der Jahrzehnte für die Deutung der Erscheinung entwickelt worden sind, sollen im Rahmen dieser kurzen Einführung nicht im einzelnen besprochen werden. Mit dem Fortschritt der Erkenntnisse haben sich zwei Betrachtungsweisen herauskristallisiert, die sich zunächst ohne erkennbare Querverbindungen gegenüberstanden. Nach der von Bordet (26, 27) begründeten Vorstellung, der sich eine Anzahl von Forschern anschloß (79, 134, 183, 184, 243, 245), sind die BPh als endogene Produkte der Bakterienzelle zu betrachten. Diesem Gedanken steht die Ansicht gegenüber, daß es sich um Virusteilchen im Sinne exogener infektiöser Partikel handelt. Die in den vergangenen Jahren bei lysogenen Bakterien entdeckten Beziehungen haben zu einer Modernisierung der Theorie des endogenen Ursprungs der BPh geführt und gleichzeitig eine Brücke zur Virustheorie geschlagen. Der Fortschritt in unserem Wissen über die Natur der Viruserscheinungen und über das Wesen der BPh hat Gemeinsamkeiten erkennen lassen (76), die es rechtfertigen, den BPh Viruscharakter zuzuerkennen. Diese Vorstellung findet, wie schon eingangs erwähnt, in der angelsächsischen Literatur durch die Bezeichnung „bacterial viruses" ihren sprachlichen Ausdruck. Andererseits ist die Annahme eines endogenen Ursprungs der BPh durch die Aufklärung der Lysogenitäts- und Transformationserscheinungen stark gestützt worden. Die Phagen sind danach als cytoplasmatische Elemente mit genetischer Kontinuität zu betrachten. Die Existenz „symbiontischer" Phagen, die Mutabilität „vegetativer" Phagen während der Latenzperiode, die Rekombinations- und Reaktivierungsphänomene, der gleiche chemische Aufbau und vor allem die Art der Reproduktion sprechen für die Vorstellung, daß es sich bei den BPh um „freie Gene" mit Viruseigenschaften handelt. Obwohl die experimentellen Grundlagen für diese Sicht erst in den allerletzten Jahren erarbeitet worden sind (49), ist der Gedanke, daß es sich bei den Viren um „freie Gene" handelt, schon in der frühen Phagenforschung aufgetaucht (76, 179, 243). Die Genetik der Phagen hat gezeigt, daß ein Vergleich mit Genkomplexen, also Chromosomen oder selbst Chromosomengruppen, die Situation richtiger

kennzeichnen würde. Wie solche freien Komplexe entstehen, bleibt einstweilen Spekulationen überlassen.

Entscheidend für den Virusstandpunkt ist die mit dem Begriff „Virus" verbundene Vorstellung. LURIA (155) hat eine Definition folgenden Inhalts gegeben: Viren sind submikroskopische Einheiten, die befähigt sind, in spezifische lebende Zellen einzudringen — oder eingeführt zu werden — und die sich nur in solchen Zellen vermehren. Um als Virus angesprochen werden zu können, muß das Teilchen, selbst wenn es latent von Zellteilung zu Zellteilung übertragen wird, zu irgendeinem Zeitpunkt befähigt sein, in eine neue Wirtszelle von außen her einzudringen. Ein Verzicht auf diese Forderung würde die Viren mit normalen selbstreproduzierenden protoplasmatischen Zellbestandteilen (Genen oder anderen Einheiten mit genetischer Kontinuität) identifizieren. Die potentielle Übertragbarkeit ist aber ein wesentlicher Bestandteil des Begriffes „Virus". Mit anderen Worten: Die Fähigkeit, in eine fremde Zelle einzudringen, die Infektiosität, ist ein für Viruserscheinungen charakteristisches Merkmal. Die erwähnten Forderungen werden von den BPh erfüllt. Da die Virus-„erkrankungen" bei Mensch und Tier, Pflanze und Bakterium nur als wesensähnlich angesehen werden dürfen, liegt es in der Natur der Sache, daß die beim Studium e i n e s Virus gewonnenen Ergebnisse nicht a priori für alle anderen Viren Gültigkeit besitzen müssen. Auf der anderen Seite darf aber nach dem Stand unseres heutigen Wissens nicht jedes Virus als vollkommen isoliert dastehende Einheit ohne Beziehung zu anderen Viren betrachtet werden.

Obwohl meist angenommen wird, daß es kein Virus gibt — gleich, ob in Tieren, Pflanzen oder Bakterien — welches de novo entsteht, erscheint es nicht abwegig, trotz des Mangels an experimenteller Fundierung, daran zu denken, daß vielleicht unter bestimmten Bedingungen ein Teil des genetischen Materials eines Bakteriums zu einem übertragbaren Agens und damit zu einem Bakteriophagen werden kann.

Wegen der Besonderheiten der bei Bakterien zu beobachtenden Viruserscheinungen und aus Gründen der Beibehaltung eingeführter Begriffe wurde in der vorliegenden Arbeit die alte Bezeichnung „Bakteriophage" an Stelle von „Bakterienvirus" bevorzugt. —

Die bisherigen Ausführungen sollten den gegenwärtigen Stand der Phagenforschung umreißen und an die Probleme heranführen, die sich aus den gewonnenen Erkenntnissen über die Beziehungen zwischen Bakteriophagen und Bakterien in theoretischer und praktischer Hinsicht ergeben. Während an einigen wenigen Phagen-Wirt-Systemen die verschiedensten Fragen der Wechselbeziehung eingehend bearbeitet worden sind und die Grundlage für unsere heutigen Vorstellungen bilden, ist bei anderen Systemen oft nicht mehr bekannt, als daß es für dieses oder jenes Bakterium Phagen gibt. Da eine Verallgemeinerung der bisher gewonnenen Ergebnisse vergleichende Untersuchungen an anderen Systemen erfordert und bei einer Anzahl von phytopathogenen Bakterien Bakteriophagenerscheinungen bekannt geworden sind, ergeben sich für die bakteriologisch arbeitenden Phytopathologen interessante

Forschungsgebiete, die auch für epidemiologische Fragen von Bedeutung sein dürften.

II. Spezieller Teil

Im zeitlichen Verlauf der Phagenforschung bei phytopathogenen Bakterien sind drei Entwicklungsabschnitte zu erkennen. Der erste umfaßt die Zeit vom Beginn dieses Arbeitsgebietes bis in die 30er Jahre. Die therapeutischen Aspekte stehen im Vordergrund und die Möglichkeiten einer praktischen Nutzbarmachung werden zunächst sehr optimistisch beurteilt. Zahlreiche Veröffentlichungen sind ein Beweis für das große Interesse, das den Phagenerscheinungen von seiten der Phytopathologen entgegengebracht wird. Die schon eingangs erwähnte Arbeit von Katznelson (*34*), die als letztes Sammelreferat 1937 erschienen ist, gibt eine Zusammenfassung der bis dahin erzielten Ergebnisse. Sie behandelt, ebenso wie einige noch ältere Übersichtsreferate (*32, 71, 107, 113*), im wesentlichen die mit der Phagentherapie zusammenhängenden Fragen. Da in jener Zeit über die Natur der BPh und die Beziehungen zum Wirtsbakterium erst wenig bekannt war, ist es verständlich, daß spekulative Hoffnungen aus Mangel an experimentell gewonnenen Erkenntnissen sehr oft die Meinung bestimmt haben. Je mehr Untersuchungen durchgeführt wurden, um so eindeutiger erkannte man die Schwierigkeiten, die einer erfolgreichen Phagentherapie entgegenstehen, und um so mehr ließ das Interesse an BPh auf Grund dieser Erkenntnis nach. Für den zweiten Entwicklungsabschnitt ist diese Tendenz charakteristisch. Die Fortschritte der allgemeinen Phagenforschung während des letzten Jahrzehnts haben dazu geführt, daß heute auch in der Phytopathologie den BPh wieder größeres Interesse entgegengebracht wird. Seit 1950 sind, vor allem von amerikanischen und japanischen Phytopathologen, etwa drei Dutzend Arbeiten auf diesem speziellen Gebiet veröffentlicht worden, die in erster Linie Gegenstand nachstehender Ausführungen sein sollen. Wenn die bisher vorliegenden Ergebnisse für die allgemeine Phagenforschung, die in der gleichen Zeit auf mehr als tausend Arbeiten zurückblicken kann, auch nichts wesentlich Neues gebracht haben, so bedeuten sie für die Phytopathologie doch recht wertvolle Beiträge und geben einem lange Zeit vernachlässigten Arbeitsgebiet der Bakteriologie neue Impulse. Entsprechend den bei anderen Phagen-Wirt-Systemen gewonnenen Erkenntnissen lassen die Untersuchungen Ansatzpunkte dafür erkennen, daß BPh bei der Entstehung neuer Bakterientypen, die auch für epidemiologische Fragen von Bedeutung sein dürften, eine Rolle spielen. Im Zusammenhang mit den Transformationserscheinungen wurde auf die theoretischen Grundlagen dieser Beziehungen schon näher eingegangen.

Für die praktische Nutzbarmachung der BPh haben sich in der Phytopathologie zwei verschiedene Möglichkeiten ergeben. Erstens können sie, wie es in zahlreichen Untersuchunglaboratorien der medizinischen Bakteriologie schon seit langem routinemäßig geübt wird, für Zwecke der Identifizierung

und Typisierung von Bakterien eingesetzt werden (Lysotopie). Zweitens dürfte es nach einigen in jüngster Zeit mitgeteilten Ergebnissen grundsätzlich auch möglich sein, mit Hilfe von Bakteriophagen Methoden für den Nachweis pathogener Bakterien in pflanzlichen Geweben zu entwickeln. Das Verfahren beruht im Prinzip auf folgender Überlegung: Wird einem mit Bakterien infizierten Pflanzengewebe eine bekannte Anzahl zu diesem Bakterium „passender" BPh in einer Lösung zugesetzt, dann muß sich der Phagentiter unter geeigneten Vermehrungsbedingungen erhöhen. Obwohl das sehr einfach aussieht, ist die erfolgreiche Durchführung eines solchen Testes doch von allerlei Voraussetzungen abhängig, auf die bei der Besprechung der in dieser Frage erzielten Ergebnisse noch zurückzukommen sein wird.

Da die symbiontischen Knöllchenbakterien auch parasitäre Züge erkennen lassen (mutualistischer Parasitismus), stehen sie den phytopathogenen Bakterien nahe. Aus diesem Grunde sollen die Ergebnisse der Phagenforschung dieses Sondergebietes in den Rahmen der Betrachtung mit einbezogen werden.

1. Historische Entwicklung

Vermutlich haben Mallman und Hemstreet *(50)* 1924 als erste BPh eines phytopathogenen Bakteriums isoliert. Es gelang ihnen, aus naßfaulem, verrottetem Kohl ein lytisches Prinzip zu gewinnen, das gegen fluoreszierende, aus demselben Material isolierte Bakterien aktiv war. Durch Serienpassagen konnten sie die Wirkung des lytischen Prinzips so steigern, daß die Lösung noch bei einer Verdünnung von 10^{-11} Aktivität besaß. Schon ein Jahr früher waren aus pflanzlichem Material BPh gegen Knöllchenbakterien isoliert worden (*23*).

Ein großer Teil der Arbeiten aus jener Epoche erschöpfte sich in der Feststellung, BPh für bestimmte Bakterien isoliert zu haben, in der Darstellung der Isolierungsmethoden und in spekulativen Betrachtungen über therapeutische Aussichten. In vielen Fällen ist es nicht einmal sicher, ob es sich bei den als Bakteriophagenwirkung angesprochenen Erscheinungen auch wirklich um BPh gehandelt hat. Denn die Verhinderung von Bakterienwachstum wurde von den älteren Autoren oft mit Bakteriophagenwirkung gleichgesetzt. Bei dem Stand des damaligen Wissens ist dies nicht verwunderlich; es dürfte sich aus diesem Grunde in einigen Fällen aber um nichts anderes als antagonistische Wirkungen gehandelt haben. Die methodischen Fragen standen in den frühen Phagenarbeiten im Vordergrund (*12, 17, 49, 105*). Verschiedentlich hat man Gewebeteile aseptisch auf einen beimpften Nährboden gebracht und aus der Entwicklungshemmung der Bakterien in der Nähe des Gewebes auf das Vorhandensein von Phagen geschlossen (*15, 23, 106*). Zwangsläufig müssen solche Methoden oft zu Fehldeutungen geführt haben.

Auf der Suche nach BPh für die verschiedensten phytopathogenen Bakterien gelang es, besonders aus erkrankten Pflanzenteilen, in einer Anzahl

von Fällen Phagen zu isolieren. In der folgenden Zusammenstellung sind die Bakterien aufgeführt, für die bislang BPh beschrieben worden sind[1]).

Agrobacterium tumefaciens (9, 12, 18, 24, 27, 28, 29, 33, 42, 73, 74, 108, 119, 120),
Bacterium stewarti (93, 94, 97, 115, 117),
Erwinia aroideae (62, 63, 64, 69),
„ *carotovora (11, 13, 70, 90),*
Pseudomonas atrofaciens (92),
„ *coronafaciens (92),*
„ *glycinea (92),*
„ *lachrymans (92),*
„ *mori (7, 31),*
„ *phaseolicola (1, 92),*
„ *pisi (92),*
„ *syringae (30),*
„ *tabaci (16, 22, 72, 77, 78, 79),*
„ *xanthochlora (30),*
Xanthomonas citri (68),
„ *malvacearum (17, 53, 54, 55, 65, 81, 91, 118),*
„ *oryzae (109, 110, 111, 112),*
„ *phaseoli (35, 36, 38),*
„ *pruni (3, 6, 14, 19, 20, 21, 43, 51, 52, 101, 102, 103, 104),*
„ *solanacearum (41, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 66, 67, 80, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 116),*
„ *translucens (37, 92).*

Hinzu kommen Phagen bei phytopathogenen Actinomyceten (*75, 76, 114*).

Wie aus der Zahl der Literaturstellen zu erkennen ist, sind die Untersuchungen vor allem an einigen wenigen Bakterien durchgeführt worden.

Schon 1926 wurde bei *Pseudomonas tumefaciens* beobachtet, daß auch Bakterienkulturen selbst eine Phagenquelle sein können (*28*). Ob es sich dabei um echt lysogene Bakterienstämme oder um einen Fall von Pseudolysogenie (Trägerstamm) gehandelt hat, kann heute nicht mehr entschieden werden. Auf Grund dieser Befunde vertrat man sogar die Ansicht, daß überhaupt erst durch die Vergesellschaftung von Bakterien und BPh Tumoren entstehen können (*24*). Diese irrige Vorstellung wurde jedoch bald danach angegriffen (*9, 39, 40*). Abgesehen von erkrankten Pflanzengeweben (*34*) und Samen (*96*) konnten gelegentlich aus Böden unter erkrankten Bäumen (*3*) oder anderen Pflanzen (*54*) Phagen isoliert werden. Für *Ps. tumefaciens* wurden in pflanzlichen Tumoren, aber auch in den angrenzenden Gewebepartien, BPh festgestellt (*12, 120*). Von dieser Beobachtung ausgehend, hat man auf eine prophylaktische Bedeutung in der Pflanze geschlossen (*4, 8*).

---

[1]) Die in den Originalarbeiten benutzten Bakteriennamen sind in den meisten Fällen in der Zwischenzeit ein oder mehrere Male geändert worden. In der obigen Zusammenstellung werden deshalb nur die zur Zeit gültigen Artbezeichnungen angeführt.

Außerdem brachte man die Schwierigkeit der Bakterienisolierung aus Tumorgewebe mit der lytischen Wirkung der Phagen in Verbindung (*27, 28, 29*). Auf die zahlreichen Versuche, einen prophylaktischen Schutz oder eine therapeutische Wirkung erzielen, soll hier nicht näher eingegangen werden. Der schwache Punkt der Phagentherapie, der in dem Aufkommen resistenter Bakterien liegt, wurde auch in der Phytopathologie sehr bald erkannt. Man hat zwar BPh isolieren können, die gegen mehrere Stämme wirksam waren (*13, 50*), sah sich im allgemeinen jedoch einer spezifischen Wirkung gegenübergestellt (*25, 27, 66, 73*), die mit der für therapeutische Zwecke erforderlichen Polyvalenz nicht in Einklang zu bringen war. Auf Grund dieser Situation wurde andererseits schon seit den 30er Jahren erkannt, daß die spezifische Wirkung der BPh für Identifizierungszwecke bestimmter Bakterientypen ausgenutzt werden kann (*7, 95, 98, 99, 100, 121*). Auf die Entwicklung dieses speziellen Arbeitsgebietes wird im folgenden Abschnitt näher eingegangen. Es soll an dieser Stelle noch auf einige Beobachtungen aus Arbeiten der frühen Phagenforschung hingewiesen werden, die im Hinblick auf heute interessierende Fragen erwähnenswert sind. Zunächst sei festgehalten, daß BPh aus gesunden Pflanzengeweben in den meisten Fällen nicht isoliert werden konnten (*119*). Am günstigsten verlief die Isolierung bei stark infizierten Pflanzenbeständen. Im Spätstadium einer Epidemie konnten aus kranken Blättern BPh am leichtesten gewonnen werden (*77*). Die Frage, ob und inwieweit sie bei der Reduktion von Infektionskrankheiten oder der Vernichtung virulenter Typen nach einer Epidemie beteiligt sind, ist auch nach dem, was heute über die Beziehungen von BPh zu Bakterien bekannt ist, nicht zu beantworten. Die Spekulationen aus früherer Zeit laufen meist auf eine entsprechende Rolle hinaus. So soll durch Phagen das Überwintern der Wildfeuerbakterien kontrolliert (*72*) und die Verbreitung pathogener Bakterien begrenzt werden (*94*). Der Rückgang phytopathogener Bakterien im Boden soll ebenfalls hiermit im Zusammenhang stehen (*13, 55*). Da experimentelle Beweise für derartige Vorstellungen nicht gegeben sind, wird hier auf eine nähere Erörterung dieser an sich wichtigen Fragen verzichtet.

Zwischen Pathogenität und Bakteriophagenwirkung konnte bei *Pseud. tumefaciens* schon 1937 ein gewisser Zusammenhang beobachtet werden (*119*). Von 15 Bakterienstämmen wurden durch einen bestimmten Phagen nur alle hochvirulenten Stämme lysiert, während die schwach oder avirulenten Stämme sich als resistent erwiesen. Ob die Verhältnisse mit den im I. Teil dieser Arbeit beschriebenen Erscheinungen bei Diphtheriebakterien in irgendeinem Zusammenhang stehen, kann natürlich heute nicht gesagt werden. In anderen Untersuchungen wurde festgestellt, daß phagensensible und phagenresistente Bakterien in ihrer Pathogenität keinen Unterschied zeigten (*22, 65*). Wenn Brown und Quirk (*9*) beobachteten, daß durch das Zusammenwirken von Bakterien und Phagen eine Virulenzsteigerung zustande kam, dann dürfte dies heute vielleicht mit der Annahme erklärt werden können, daß resistente Formen mit erhöhter Virulenz im Spiele gewesen sind. Unter der Einwirkung von Phagen wurde auch das Auftreten neuer Bakterientypen

gelegentlich beobachtet (*41*). Bei dem Formwechsel von R- (rough) zu S- (smooth) Kolonien konnte eine Änderung der Pathogenität festgestellt werden, die wiederum mit einer unterschiedlichen Reaktion gegenüber bestimmten BPh verbunden war. Die S-Form war bei *Pseud. medicaginis* var. *phaseolicola* empfindlicher als die R-Form (*1*). Bei *X. malvacearum* lagen die Verhältnisse umgekehrt; hier war die R-Form phagenempfindlich und die S-Form resistent (*54*). Aus diesen Beobachtungen ergeben sich Ansatzpunkte für eine Reihe von Problemen, die einstweilen noch völlig im Dunkeln liegen.

2. Der gegenwärtige Stand der Phagenforschung bei phytopathogenen Bakterien

Katznelson und Mitarbeiter (*35, 36, 37, 38, 92*) haben sich seit 1950 mit dem Problem des Nachweises bakterieller Sameninfektionen befaßt. Der Einsatz spezifischer BPh hat sich nach ihren Erfahrungen auf diesem Gebiet als wertvolles diagnostisches Hilfsmittel erwiesen. Gegenüber den bisherigen Nachweismethoden (kulturellen und serologischen Verfahren sowie Infektionsversuchen) bietet der Phagentest den Vorteil, schnell zu arbeiten und auch bei verwandtschaftlich nahen Beziehungen der Bakterien eine exakte Typenbestimmung zu ermöglichen, sofern ein spezifischer BPh zur Verfügung steht. Dies ist der entscheidende Punkt. Worauf das Verfahren im Prinzip beruht, ist schon erwähnt worden. Die Isolierung der benötigten Phagen wurde wie folgt durchgeführt: Zermahlene Samen eines natürlich infizierten Materials wurden zunächst nach Beimpfung mit Reinkulturen des gleichen Erregers in einer geeigneten Nährlösung bebrütet. Das sterile Filtrat solcher Lösungen diente als Ausgangsmaterial für die Gewinnung der Phagen, deren Konzentration — wenn überhaupt BPh vorhanden waren — durch Serienpassagen erhöht und deren Isolierung mit der üblichen Plaquetestmethode erreicht wurde. Auf diesem Wege gelang es, aus 36 Erbsenproben fünf Phagen gegen *Ps. pisi* zu isolieren (*92*). 60 Weizenproben lieferten nach derselben Methode 59 BPh für *Ps. atrofaciens*. Auffallenderweise waren diese 59 Phagen nicht gegen pathogene Stämme, sondern nur gegen einen bestimmten avirulenten Stamm wirksam. Eine Erklärung für dieses Verhalten konnte nicht gegeben werden. Nach Ansicht des Ref. wäre es denkbar, daß es sich um temperierte Phagen gehandelt hat und daß die Verhältnisse ähnlich gelegen haben, wie bei dem im Teil I unter Transformationserscheinungen erwähnten Beispiel für virulente und avirulente Diphtheriebakterien. Aus Gerste und Hafer konnten in entsprechenden Versuchen BPh für *X. translucens* f. sp. *hordei, secalis* und *hordei-avenae* isoliert werden. Versuche mit *X. translucens* f. sp. *cerealis* und *undulosa* verliefen zunächst erfolglos (*92*).

Die fünf aus Erbsen isolierten BPh waren in ihrem Wirtspektrum nicht einheitlich. Ein polyvirulenter Phage für *Ps. pisi* besaß auch für *Ps. glycinea*, *Ps. lachrymans* und *Ps. medicaginis* var. *phaseolicola* lytische Aktivität, was auf eine nahe Verwandtschaft der empfindlichen Arten schließen läßt. Hier zeigt sich, daß die Methode hinsichtlich der Spezifität nicht überschätzt werden darf. Diese Ansicht wird auch durch die Beobachtung gestützt, daß mit

einem BPh für *X. translucens* fast alle zu dieser Gruppe gehörenden Bakterienstämme, die für den Test zur Verfügung standen, lysiert werden konnten (*37*). Auf der anderen Seite wird häufig eine „zu" spezifische Wirkung beobachtet, und in solchen Fällen muß daran gedacht werden, daß der negative Ausfall eines Testes nicht ohne weiteres dazu berechtigt, bei nicht eintretender Phagenvermehrung auf nichtinfiziertes Material zu schließen. Trotz der sich zwangsläufig ergebenden Schwierigkeiten in der Wahl der geeigneten BPh — die zunächst überhaupt erst einmal zur Verfügung stehen müssen — sind die bisher vorliegenden Ergebnisse ermutigend. Gerade in dem speziellen Fall der Sameninfektionen ist die Phagenmethode einfacher, schneller und, nach den bisherigen Erfahrungen, auch wirksamer als die gewöhnlichen Verfahren, die eine Isolierung der Bakterien und die Durchführung von Pathogenitätstesten erfordern. Bei Bohneninfektionen mit *X. phaseoli* konnten in keinem Fall Bakterien isoliert werden, wenn der Plaquetest negativ ausging (*38*). Selbst bei sehr schwachem Befall, wenn der Nachweis mit anderen Verfahren überhaupt nicht oder nur gelegentlich gelang, konnten Infektionen mit Hilfe dieser Methode eindeutig nachgewiesen werden. Ob das Verfahren für die Bestimmung pathogener Bakterien im Boden ebenfalls geeignet ist, darüber liegen noch keine Untersuchungen vor. Ausführliche Angaben über die methodischen Fragen des Testes sind in der Arbeit von Katznelson, Sutton und Bayley (*38*) zu finden.

In Fortsetzung früherer Untersuchungen (*101, 102, 103, 104*) haben sich Eisenstark und Mitarbeiter (*6, 14, 19, 21, 43, 51, 52*) in den letzten Jahren wieder mit BPh von *X. pruni* beschäftigt. Ein im Jahre 1927 isolierter Phage, der 20 Jahre lang bei Zimmertemperatur in einem versiegelten Glas im Dunkeln aufbewahrt worden war und nach dieser Zeit noch Aktivität besaß (*103*), war das Ausgangsmaterial für die wieder aufgenommenen Untersuchungen. Elektronenmikroskopisch konnte der Durchmesser des BPh mit 50 mμ bestimmt werden. Er besaß wie die Coliphagen einen schwanzförmigen Anhang von 100 mμ Länge und 10 mμ Dicke (*104*). 1935 hatte Thornberry (*101*) mit Hilfe der Ultrafiltration die Größe dieses Phagen mit etwa 11 mμ bestimmt. Mehrere Arbeiten befassen sich mit dem Verhalten gegenüber chemischen und physikalischen Einflüssen (*14*) und mit den Bedingungen, die die Größe der Plaques bestimmen (*21, 52*). Auf der Basis der Plaque-Morphologie konnten fünf verschiedene Phagentypen als Abkömmlinge des ursprünglichen Stammes isoliert werden (*51*). Mit zwei bis sechs Stunden alten Kulturen wurden die größten Plaques erzielt. Eine Vergrößerung der Plaques war auch bei Zusatz von 3 % NaCl, bei geringer Bakterieneinsaat und bei niedriger Bebrütungstemperatur zu beobachten (*52*). Diese Maßnahmen bewirken eine Verlangsamung des Stoffwechsels, so daß die Plaquegröße als eine Funktion der Zellteilung nicht-infizierter Zellen angesehen werden muß. Bei anderen Phagen-Wirt-Systemen sind diese Beziehungen seit langem bekannt. Im Teil I wurde schon darauf hingewiesen, daß die absolute Plaquegröße aus diesem Grunde für taxonomische Fragen ohne Bedeutung ist.

Bei der Prüfung der *Pruni*-Phagen gegen *Xanthomonas*-Arten war eine Wirksamkeit nur bei *X. pruni* selbst zu beobachten. Sie war spezifischer als in serologischen Testen (*102*). Von 212 *Xanthomonas*-Stämmen wurden nur 13 Kulturen von *X. pruni* lysiert (*19*). Drei weitere *X. pruni*-Stämme, die sich resistent verhielten, erwiesen sich später als lysogen. Bei der Lysotopie stellte es sich als vorteilhaft heraus, ein Gemisch der verschiedenen für *X. pruni* aktiven Phagentypen zu verwenden. Es konnte so erreicht werden, daß ein Bakterienstamm, der gegen einen bestimmten BPh resistent, gegenüber einem anderen aber sensibel war, mit erfaßt wurde. Ähnlich wie in der heutigen Phagentherapie wird also eine Mischung verschiedener Phagentypen und damit eine Verbreiterung des Wirkungsspektrums für zweckmäßig gehalten. Bei der Typisierung bestimmter Stammvarianten wird man demgegenüber nur mit spezifischen Bakteriophagen weiterkommen. Die beiden letzten Veröffentlichungen von EISENSTARK und Mitarbeiter bringen eine neu entwickelte Methode für die Gewinnung hochkonzentrierter BPh-Lösungen (*6*) sowie den Nachweis für das Vorliegen echter Lysogenität bei einem phagenresistenten Bakterienstamm (*20*).

In Japan beschäftigen sich OKABE, GOTO, NAITO und MATSUI[1]) seit einiger Zeit mit Phagen von *Ps. solanacearum*. OKABE hat 1953 seine mit MATSUMOTO 1935 begonnenen Phagenarbeiten (*66*, *67*, *68*) wieder aufgenommen, nachdem 1937 die letzte Arbeit von ihm erschienen war (*80*). Neuerdings konnte er eine Anzahl verschiedener BPh isolieren und ebenfalls die Phagen-Lysis-Technik als schnelle und verläßliche Methode bei der Identifizierung und Klassifizierung von Bakterienstämmen einsetzen (*82*). Die acht von OKABE und Mitarbeiter isolierten BPh lassen sich in sechs immunologische Gruppen einreihen. Sie unterscheiden sich in Plaquegröße, Wirtsbereich, Hitze-Inaktivierung, Stabilität bei verschiedenem pH, Latenzperiode und Durchschnittsausbeute. Letztere schwankt bei den verschiedenen Phagen von 3 bis 190 (*83*). Die Eigenschaften phagenresistenter Stämme wurden in Kultur, im Boden und in der Wirtspflanze untersucht (*84*). Obwohl eine Variation der Bakterientypen auch bei Abwesenheit von BPh zu beobachten ist, führt ihre Gegenwart zur schnelleren Entwicklung von Kolonievarianten und zum verstärkten Auftreten phagenresistenter Stämme. Das Sekundärwachstum in Gegenwart von BPh war nicht immer auf resistente Bakterien zurückzuführen. OKABE konnte zeigen, daß die Anwesenheit von BPh in erkrankten Pflanzenteilen auf die Entwicklung der Erkrankung ohne Einfluß war; d. h. in diesem Falle hatten die phagenresistenten Stämme die gleichen pathogenen Eigenschaften wie der phagenanfällige Typ. Auch hinsichtlich der Fermentationsfähigkeit und Farbstoffbildung waren sie mit den Ausgangstypen identisch. Ein Übergang von resistenten zu empfindlichen Stämmen wurde nicht festgestellt. Von 40 untersuchten Kulturen waren acht lysogen (*85*). Auch in anderen Eigenschaften unterscheiden sich die temperierten BPh von den virulenten. Sie bilden kleine trübe Plaques, werden leichter inaktiviert und ver-

[1]) In einer mir während der Drucklegung bekannt gewordenen Arbeit von TSUJITA und MATSUI wird über doppelt lysogene Bakterien bei *Ps. solanacearum* berichtet (105 a).

mehren sich nur langsam. Bei den verschiedenen lysogenen Stämmen ist das Verhältnis von temperierten Phagen zu Bakterien sehr unterschiedlich (von 1 : 300 bis 1 : 790 000). Von OKABE wurde darauf hingewiesen, daß durch antibiotisch wirksame Stämme (innerhalb der *Ps. solanacearum*-Gruppe) ein Effekt auftreten kann, der ein plaqueähnliches Bild gibt. Damit ist eine Verwechslung mit „phagolytischer" Aktivität leicht möglich (*86*). In Kulturmedien wie auch in erkrankten Geweben konnte häufig ein Wechsel vom F → Op-Typ festgestellt werden (*87*). Der F-Typ war hochvirulent und phagenempfindlicher als der schwach oder avirulente Op-Typ, der außerdem durch Verlust der Pigmentbildungsfähigkeit und anderer Koloniemerkmale ausgezeichnet war. Bei einer großen Anzahl, aus den verschiedensten Arealen isolierter Bakterien ließen sich 20 Lysotypen differenzieren (*88*). Dabei zeigte es sich, daß die Verteilung gewöhnlich lokal ist. Drei Varietäten wurden jedoch weit verbreitet in Japan angetroffen. Die Pathogenität dieser Stämme war größer als die der lokalisierten Typen, was in künstlichen Infektionsversuchen an Tabak bestätigt werden konnte.

MATSUI befaßte sich vor allem mit der Inaktivierung der *Solanacearum*-Phagen (*57, 58, 59*). Bei 10 Min. dauernder Hitzebehandlung war die Aktivität zwischen 0 ° und 40 ° C stabil. Danach war ein starker Anstieg der Inaktivierung zu beobachten, die bei 50 ° C vollständig war. Der Inaktivierungspunkt liegt somit bei dem thermalen Tötungspunkt der Bakterien (*57*). Bei der Inaktivierung durch UV-Licht ergab sich eine logarithmische Abhängigkeit von der Strahlendosis. Die inaktivierten BPh wurden auch von toten Bakterienzellen adsorbiert (*59*). Die Adsorptionsrate bei lebenden Bakterien änderte sich mit ihrem physiologischen Zustand (*56*). Ein BPh SP1 und seine Mutante SP1h1 wurden von MATSUI unter verschiedenen Bedingungen mit der Einstufentechnik analysiert (*60*). Serologisch waren beide Phagen nahe verwandt; sie unterschieden sich aber in ihrem Wirtsbereich. Hinsichtlich der Latenz- und Anstiegszeit sowie der Durchschnittsausbeute ergaben sich folgende Unterschiede:

	SP1	SP1h1
Latenzzeit	95 Min.	120 Min.
Anstiegszeit	15 Min.	25 Min.
Durchschnittsausbeute	130 BPh	70 BPh

Die Durchschnittsausbeute war von der Temperatur unabhängig und änderte sich auch nicht nach Mehrfachinfektion. Bei Mischinfektionen mit den beiden Phagentypen wurden die bekannten Interferenzerscheinungen beobachtet (*61*). Nach Simultaninfektion waren in der Nachkommenschaft beide Typen zu finden. Wenn die Infektion mit einem Typ früher erfolgte als mit dem anderen, dann wurde der zuletzt eingesetzte von der Vermehrung ausgeschlossen oder in seiner Vermehrung stark reduziert. Als neues

Phänomen kann die Beobachtung gelten, daß inaktivierte SP1-Phagen bei Mischinfektion mit aktivem SP1h1 reaktiviert werden konnten.

Untersuchungen über BPh für *E. carotovora* liegen von Chapman, Hillier und Johnson (*11*) sowie Miyake und Hamada (*70*) vor. Erstere untersuchten die aus einem Plaque isolierten Phagen elektronenmikroskopisch und stellten neben den bekannten Teilchen auch eine Anzahl anders geformert Partikel fest, wobei nicht klar ist, inwieweit es sich dabei um Artefakte gehandelt hat. Die Japaner ermittelten an infizierten Möhrenscheiben die günstigsten Bedingungen für eine wirksame Verhinderung der bakteriellen Zersetzung durch BPh-Behandlung. Aus solchen Untersuchungen dürfte die Entwicklung in der Praxis brauchbarer Bekämpfungsmaßnahmen jedoch nicht zu erwarten sein.

Fulton (*22*) isolierte aus wildfeuerkranken Tabakblättern zwei BPh, die gegen *Ps. tabaci* und *Ps. angulatum* aktiv waren. Der eine Phage bildete trübe Plaques, aus denen lysogene Bakterien isoliert werden konnten. Diese waren ebenso pathogen wie die Ausgangskultur. Der BPh 1 soll auch gegen *Ps. lachrymans*, der BPh 2 gegen *Ps. coronafaciens*, *Ps. phaseolicola* und *Ps. syringae* aktiv gewesen sein. Am leichtesten konnten Phagen aus stark infizierten Beständen isoliert werden. Auf diese Tatsache war auch schon früher von Novikowa (*77*) hingewiesen worden. In Gewächshausversuchen konnten keine Unterschiede zwischen phagensensiblen und phagenresistenten Stämmen hinsichtlich ihrer Pathogenität festgestellt werden. Daß BPh bei der Schwächung von Infektionskrankheiten eine entscheidende Rolle spielen, ist nach Fultons Untersuchungen unwahrscheinlich. Es wird eher für möglich gehalten, daß BPh bei der Vernichtung der Bakterien nach einer starken Infektion beteiligt sind. Bevor nicht umfangreiche Untersuchungen über diese Probleme vorliegen, dürften nach Ansicht des Ref. über die ökologische Bedeutung der Phagen keine gesicherten Aussagen gemacht werden können.

Rosberg und Parrack (*91*) haben aus getrockneten, zwei Jahre alten, erkrankten Baumwollblättern BPh für *X. malvacearum* isoliert. Im Elektronenmikroskop stellten sie eine Partikelgröße von 27 mμ fest. Ein distinkter Schwanzteil wie bei den Coliphagen war nicht zu erkennen. In lysierten Kulturen trat auch nach zwölf Tagen kein Sekundärwachstum ein. Es wird für möglich gehalten, daß ein Gemisch aus verschiedenen Phagentypen vorgelegen hat, durch das die gewöhnlich auftretenden phagenresistenten Mutanten lysiert wurden.

Von Wakimoto sind seit 1954 vier Arbeiten über Phagen von *X. oryzae* veröffentlicht worden (*109, 110, 111, 112*)[1]).

Auf die älteren Actinophagen-Arbeiten wurde schon im I. Teil hingewiesen. In der Phytopathologie haben vor allem die Beziehungen zu *Streptomyces scabies*, dem Erreger des Kartoffelschorfes, interessiert. Newbould und Garrard (*75, 76*) stellten fest, daß eine Isolierung der Actinophagen am ehesten dort gelingt, wo eine starke Vermehrung des Wirtes stattgefunden

[1]) Eine Besprechung der Ergebnisse dieser Arbeiten ist nicht möglich, da die Unterlagen nicht beschafft werden konnten.

hat. Aus Kartoffelauszugs-Filtrat konnten sie einen Phagen isolieren, der gegen 13 von 15 *Scabies*-Stämmen aktiv war. Die lytische Wirkung war bei acht bis elf Stunden alten Myzelien am größten. Eine Spezifität lag nicht vor; auch andere Bodenstreptomyceten wurden lysiert.

3. Bakteriophagen bei Knöllchenbakterien

Da die Knöllchenbakterien in der landwirtschaftlichen Bakteriologie von jeher eine Sonderstellung eingenommen haben, ist es verständlich, daß man den Beziehungen zu BPh besondere Aufmerksamkeit geschenkt hat. Die bis 1950 erzielten Forschungsergebnisse sind im Rahmen eines ausführlichen Sammelreferates über die biochemischen und symbiontischen Eigenschaften der Knöllchenbakterien von E. K. und O. N. Allen (2) behandelt worden. Aus diesem Grunde sollen hier nur einige nach 1950 veröffentlichte Arbeiten besprochen werden. Bei den früheren Untersuchungen ging es in erster Linie um die Frage der Beziehung zwischen Phagen und Stickstoffbindung sowie um Zusammenhänge zwischen Phagentätigkeit und Bodenmüdigkeitserscheinungen bei wiederholtem Leguminosenanbau. Gesicherte Korrelationen konnten nicht festgestellt werden. Die Isolierung von „Rhizobiophagen“ gelang sowohl aus Knöllchen und anderen Pflanzenteilen als auch aus Bodenproben. Für die Identifizierung der verschiedenen Typen von Knöllchenbakterien sind ebenso wie bei anderen Organismen Methoden entwickelt worden. Wie bei anderen Systemen sind Phagen mit weitem Wirtsbereich und mit ganz spezifischer Wirkung bekannt. Es mag noch erwähnt werden, daß in ein und demselben Knöllchen für bestimmte BPh sensible und resistente Bakterienvarianten festgestellt wurden und daß bislang keine Phagen isoliert werden konnten, die gleichzeitig gegen verwandte Bakterien wie *Ps. tumefaciens* oder *Agrobacterium radiobacter* aktiv waren.

In England haben sich J. und A. Kleczkowski besonders mit Fragen der Phageninaktivierung beschäftigt. Da sich die Knöllchenbakterien oft durch beträchtliche Schleimbildung auszeichnen und die Phagenaktivität durch Bakterienpolysaccharide beeinflußt werden kann, wurden die Zusammenhänge näher untersucht (*45*). Eine Inaktiviernug der BPh durch bloßen Kontakt mit den betreffenden Polysacchariden konnte nicht erreicht werden. Obwohl eine starke Reduktion der Phagenaktivität nach Polysaccharidzusatz in Flüssigkeitskultur zu beobachten war, lag eine spezifische Affinität nicht vor. Die Möglichkeit einer indirekten Einwirkung auf die Phagenvermehrung durch Ausbildung einer Schutzhülle wird diskutiert.

UV-inaktivierte Phagen behalten die Fähigkeit, sich spezifisch mit ihren Wirtsbakterien zu verbinden und die Rezeptorstellen zu blockieren (*44*). Die Restaktivität UV-bestrahlter Phagenlösungen nimmt unter gleichen Aufbewahrungsbedingungen schneller ab als die Aktivität intakter, unbehandelter Phagen (*46*). Mit Chymotrypsin (0,01 %) wird die Phagenvermehrung vollständig blockiert, wenn diese Substanz in flüssiger Kultur eingesetzt wird (*44, 47*). In Agarkulturen ist keine Wirkung vorhanden. Eine getrennte Behandlung der Bakterien oder der BPh vor der Infektion ist ebenfalls ohne

Einfluß. Vermutlich wird der Phagenübertritt in die Zelle durch Chymotrypsin blockiert. In flüssiger Kultur kann auch durch Ribonuklease die Vermehrung der BPh verhindert werden (*48*). Nach bereits erfolgter Infektion wird die Vermehrung nicht mehr vollständig blockiert, sondern nur stark reduziert, da das Enzym auch auf die Vermehrung der Bakterien selbst einwirkt.

HOFER (*26*) gibt die Beschreibung eines BPh, der Knöllchenbakterien der Erbse lysiert. Die Gestalt soll hantelförmig sein und die Größe zwischen 250 und 500 mμ liegen.

ALLEN und Mitarb. (*10, 89*) haben vier gegen *Rhizobium meliloti* aktive BPh aus Ackerboden isoliert und sie nach Plaque-Morphologie, Latenzzeit, Durchschnittsausbeute und thermalem Tötungspunkt charakterisiert (*89*). Die hergestellten Phagenantiseren wirkten ausgesprochen spezifisch. Keiner der Phagen war befähigt, alle 38 getesteten Bakterienstämme zu lysieren. Sie unterschieden sich beträchtlich in ihrem Wirtsbereich. Bei Bakterioiden war die Adsorption größer als bei Zellen aus der logarithmischen Wachstumsphase. Der Titer einer bei 0 bis 4 °C aufbewahrten Phagenlösung blieb über 24 Monate lang konstant.

Aus einer Suspension von Pflanzen-, besonders Wurzelmaterial, die gleichzeitig mit einem Gemisch von 15 *Rhizobium*-Stämmen (11 *Lotus corniculatus,* 4 *L. uliginosus*) beimpft worden war, konnten vier Phagentypen isoliert werden, die gegen neun der elf Bakterienstämme von *L. corniculatus* lytische Aktivität besaßen (*10*). Zwei Phagen wurden näher untersucht. In ihren Plaques traten merkwürdigerweise niemals Sekundärkolonien auf. Die in Flüssigkeitskultur aufgetretenen resistenten Varianten stimmten mit dem Elternstamm hinsichtlich ihres physiologischen und kulturellen Verhaltens überein. Gewächshausversuche haben keinen Anhalt dafür gegeben, daß die Wirksamkeit der Bakterien durch gleichzeitige Beimpfung mit BPh zu beeinflussen ist. Ihre Rolle bei der Stickstoffbindung bleibt auch nach den letzten Untersuchungen weiterhin unentschieden. Ebenso ist man in der Aufklärung der besonders bei Luzerne zu beobachtenden Bodenmüdigkeitserscheinungen bislang nicht weitergekommen.

Abschließend soll noch auf eine Arbeit von BALASSA (*5*) hingewiesen werden, in der über induzierte Transformationserscheinungen bei Rhizobien berichtet wird. Obwohl die Untersuchungen mit BPh direkt nichts zu tun haben, sind sie im Zusammenhang mit der Übertragung von Eigenschaften sehr aufschlußreich und vertiefen die Vorstellung über Transformationserscheinungen. In C- und N-freier Nährlösung wurden Luzernesämlinge angezogen und mit einem penicillinempfindlichen Stamm von *Rh. meliloti* beimpft. Bei Erscheinen der Knöllchen erfolgte ein Penicillin-Stoß. Daraufhin entwickelte sich in den Knöllchen eine penicillinresistente Population. Bei Nachimpfung mit Knöllchenbakterien, die auf Luzerne normalerweise keine Knöllchen bildeten, traten nun Varianten dieser fremden Stämme auf mit der Fähigkeit, auch auf Luzerne Knöllchen zu bilden. Es wird vermutet, daß die unter der Einwirkung von Penicillin austretende DNS für die Trans-

formationen verantwortlich war. Daß es sich tatsächlich um Varianten der fremden Stämme gehandelt hat, glaubt Verf. nachgewiesen zu haben.

Daß die Phagenforschung bei phytopathogenen Bakterien mit den Fortschritten bei anderen Systemen nicht Schritt gehalten hat, dürfte aus einem Vergleich der in den beiden Teilen dieser Arbeit besprochenen Ergebnisse eindeutig hervorgehen. Da die Bedeutung der Bakteriophagen nach unseren heutigen Erkenntnissen nicht allein in ihrer Benutzung als Versuchsobjekt der Virusforschung gesehen werden darf, sondern auch für eine Anzahl wichtiger Probleme der allgemeinen und angewandten Bakteriologie offensichtlich ist, sollte auch in der Phytopathologie eine intensivere Bearbeitung der Bakteriophagenerscheinungen angestrebt werden.

Literaturverzeichnis

TEIL I

1. ADAMS, M. H. and WADE, E., 1954: Classification of bacterial viruses: the relationship of two Serratia phages to colidysentery phages T 3, T 7, and D 44. J. Bacter. **68**, 320—325.
2. ALPER, T., 1954: The inactivation of free bacteriophage by irradiation and by chemical agents. J. gen. Microbiol. **11**, 313—324.
3. ALSTYNE, M. H. VAN, OTTO, R. A., and MCCOY, E., 1955: Characteristics of *Streptomyces griseus* strains resistant to phage. J. Bacter. **70**, 113—119.
3a. ANACKER, R. L., and ORDAL, E. J., 1955: Study of a bacteriophage infecting the myxobacterium *Chondrococcus columnaris*. J. Bacter. **70**, 738—741.
4. ANDERSON, E. S. and FELIX, A., 1953: The Vi type-determining phages carried by *Salmonella typhi*. J. gen. Microbiol. **9**, 65—88.
5. ANDERSON, T. F., 1949: The reaction of bacterial viruses with their host cells. Bot. Rev. **15**, 464—505.
6. — —, 1950: Bacteriophages. Ann. Rev. Microbiol. **4**, 21—34.
7. APPLEYARD, R. K., 1954: Segregation of lambda lysogenicity during bacterial recombination in *Escherichia coli* K 12. Genetics **39**, 429—439.
8. AVERY, O. T., MAC LEOD, C. M., and MCCARTY, M., 1944: Studies on the chemical nature of the substance inducing transformation of pneumococcal types. Induction of transformation by a desoxyribonucleic acid fraction isolated from pneumococcus type III. J. Exp. Med. **79**, 137—158.
9. BAER, B. S. and KRUEGER, A. P., 1952: The *B. mycoides* N host-virus system; II. Interrelation of phage growth, bacterial multiplication and lysis in infections of the indicator strain of *B. mycoides* N with phage N in nutrient broth. J. gen. Physiol. **36**, 111—125.
10. — —, — —, 1952: *B. mycoides* N host-virus system; III. Release of phage from the lysogenic strain. J. gen. Physiol. **36**, 127—138.
11. BANKER, D. D., 1955: Paratyphoid-A phage typing. Nature **175**, 309—310.
12. BARNER, H. D. and COHEN, S., 1954: The induction of thymine synthesis by T 2 infection of a thymine requiring mutant of *Escherichia coli*. J. Bacter. **68**, 80—88.
13. BARON, L. S., FORMAL, S. B., and SPILMAN, W., 1953: Use of Vi phage lysates in genetic transfer. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med. **83**, 292—295.
14. BAWDEN, F. C. and PIRIE, N. W., 1938: Crystalline preparations of tomato bushy stunt virus. Brit. J. Exp. Path. **19**, 251—263.
14a. — —, and KASSANIS, B., 1954: Some effects of thiouracil on virus-infected plants. J. gen. Microbiol. 10, 160—173.
15. BARKESDALE, W. L. and PAPPENHEIMER, A. M., 1954: Phage-host relationship in toxigenic and non-toxigenic diphtheria bacilli. J. Bacter. **67**, 220—232.

16. Belozerskij, A. N., Znamenskaja, M. P., Rautenstejn, J. I., Odinkowa, M. S., Pronjakowa, G. V. und Rodionowa, N. A., 1954: Vergleichende biochemische Untersuchung der empfindlichen und der gegen Actinophagen resistenten Formen von *Actinomyces globisporus streptomycini* Kras.. Biochimija (russ.) **19**, 236—245.

17. Bennett, C. W., 1944: Latent virus of dodder and its effect on sugar beet and other plants. Phytopathology **34**, 77—91.

18. Bergmann, G. von, Frey, W. und Schwiegk, H., 1952: Handbuch der inneren Medizin. Bd. I/II, S. 47, 51. Springer-Verl.

19. Bertani, G., 1951: Studies on lysogenesis. I. The mode of phage liberation by lysogenic *Escherichia coli*. J. Bacter. **62**, 293—300.

20. — —, 1953: Lysogenic versus lytic cycle of phage multiplication. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. **18**, 65—70.

21. — —, 1953: Infection bactériophagique secondaire des bactéries lysogènes. Ann. Inst. Pasteur **84**, 273—280.

22. — —, 1954: Studies on lysogenesis. III. Superinfection of lysogenic *Shigella dysenteriae* with temperate mutants of the carried phage. J. Bacter. **67**, 696—707.

23. — — and Nice, S. J., 1954: Studies on lysogenesis. II. The effect of temperature on the lysogenization of *Shigella dysenteriae* with phage P 1. J. Bacter. **67**, 202—209.

24. Beveridge, W. I. B. and Burnet, F. M., 1946: The cultivation of viruses and rickettsiae in the chick embryo. Med. Res. Council Spec. Rep. **256**.

25. Blunck, H., 1955: Fortschritte im Wissen vom Wesen und Wirken der Viruskrankheiten. Z. Pflanzenkrankh u. Pflanzenschutz **62**, 273—336.

26. Bordet, J., 1931: The theories of the bacteriophage. Proc. Roy. Soc. B **107**, 398.

27. — — et Ciuca, M., 1920: Le bactériophage d'Hérelle, sa production et son interprétation. C. r. Soc. Biol. **83**, 1293, 1296.

28. Borek, E. and Rockenbach, J., 1954: The induction of phage formation in a lysogenic organism by irradiated leucovorin. Biochim. et biophys. Acta (Amsterdam) **15**, 140—141.

29. — —, Ryan, A., and Rockenbach, J., 1955: Nucleic acid metabolism in relation to the lysogenic phenomenon. J. Bacter. **69**, 460—467.

30. Boyd, J. S. K., 1950: The symbiontic bacteriophages of *Salmonella typhi-murium*. J. Path. Bacter. **62**, 501—517.

31. — —, 1951: Mutation in a bacterial virus. Nature **168**, 994—995.

32. — —, 1953: The role of mutation in the survival and multiplication of bacterial viruses. Siehe 81, S. 119—148.

33. — —, 1954: Bacteriophage and heredity. Nature **173**, 1050—1051.

34. Boyland, E., 1952: Different types of carcinogens and their possible modes of action: a review. Cancer Res. **12**, 77—84.

35. Bresch, C., 1952: Unterscheidung verschiedener Bacteriophagentypen durch Farbindikatornährböden. Zbl. Bakt. I, **159**, 47.

36. — —, und Mennigmann, H. D., 1954: Weitere Untersuchungen zur Genetik von T 1-Bakteriophagen. Z. Naturforschg. **9 b**, 212—215.

37. — —, und Trautner, Th., 1955: Zur Kinetik der Rekombinantenbildung bei T 1-Bakteriophagen. Z. Naturforschg. **10 b**, 436—440.

38. Burnet, F. M., 1929: A method for the study of bacteriophage multiplication in broth. Br. J. Exp. Path. **10**, 109—115.

39. — —, and McCie, M., 1929: Observations on an permanently lysogenic strain of *B. enteritidis* Gaertner. Austral. J. Exp. Biol. Med. Sci. **6**, 277—284.

40. De Carlo, M. R., Sarles, W. B., and Knight, S. G., 1953: Lysogenicity of *Bac. megaterium*. J. Bacter. **65**, 53—55.

41. Carvajal, F., 1955: Host-parasite relations with a polyvalent streptomycophage from *Streptomyces griseus*. Antibiot. and Chemother. **5**, 28—37.

42. Clarke, N. A., 1952: Studies on the host-virus relationship in a lysogenic strain of *Bacillus megaterium*. II. The growth of *Bac. megaterium* in a synthetic medium. J. Bacter. **63**, 187—192.

43. Cohen, S. S., 1947: The synthesis of bacterial viruses in infected cells. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. **12**, 35—49.
44. — —, 1949: Growth requirements of bacterial viruses. Bacter. Rev. **13**, 1—24.
45. — —, 1953: Studies on controlling mechanisms in the metabolism of virus-infected bacteria. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. **18**, 221—235.
46. — —, and Roth, L., 1953: The phosphogluconate pathway of carbohydrate metabolism in the multiplication of bacterial viruses. J. Bacter. **65**, 490—495.
47. Collevati, U., 1934: Bactériophagothérapie expérimentale intraoculaire antistaphylococcique. Società internazionale di Microbiologia. Bulletino della sezione italiana. VI, 500—516.
48. Compton, A., 1942: Results of bacteriophage treatment of bacillary dysentery at Alexandria. Brit. med. J. 719.
48a. Conn, H. J., Bottcher, E. J., and Randall, Ch., 1945: The value of bacteriophage in classifying certain soil bacteria. J. Bacter. **49**, 359—373.
49. Copisarow, M., 1955: Free chromosomes as viruses. Naturwiss. **42**, 101—102.
49a. Cowles, P. B., 1934: A bacteriophage for *Cl. tetani*. J. Bacter. **27**, 163—164.
50. — —, and Hale, W. M., 1931: Effect of bacteriophage on experimental anthrax in white mice. J. Inf. Dis. **49**, 264—269.
51. Craigie, J., 1946: The significance and applications of bacteriophage in bacteriological and virus research. Bacter. Rev. **10**, 73—88.
52. — —, and Felix, A., 1947: Typing of typhoid bacilli with Vi-bacteriophages. Lancet (1) **252**, 823—826.
53. — —, and Yen, C. H., 1938: The demonstration of types of *B. typhosus* by means of preparations of type II Vi phage. Canad. Publ. Health J. **29**, 448—463, 484—496.
54. Delbrück, M., 1940: The growth of bacteriophage and lysis of the host. J. gen. Physiol. **23**, 643—660.
55. — —, 1945: Effect of specific antisera on the growth of bacterial viruses. J. Bacter. **50**, 137—150.
56. — —, 1945: Interference between bacterial viruses. J. Bacter. **50**, 151—170.
57. — —, 1946: Bacterial viruses or bacteriophages. Biol. Rev. **21**, 30—40.
58. — —, 1948: Biochemical mutants of bacterial viruses. J. Bacter. **56**, 1—16.
59. — —, 1951: Viruses 1950. California Institute of technology.
60. — —, 1954: Wie vermehrt sich ein Bakteriophage? Angew. Chemie **66**, 391—395.
61. — —, and Bailey, W. T., 1946: Induced mutations in bacterial viruses. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. **11**, 33—37.
62. — —, and Luria, S. E., 1942: Interference between bacterial viruses. Arch. Biochem. **1**, 111—141.
63. Dickinson, L., 1948: The bacteriophages of *Pseudomonas pyocyanea.* I. The effect of various substances upon their development. J. gen. Microbiol. **2**, 154—161.
64. — —, 1954: The behaviour of a temperate phage of *Pseudomonas aeruginosa* compared with that of a serological related, virulent mutant. J. gen. Microbiol. **11**, 105—113.
65. — —, and Codd, Sh., 1952: The bacteriophages of *Pseudomonas pyocyanea.* II. Bacteriophage reproduction in an iridescent strain. J. gen. Microbiol. **6**, 1—13.
66. Doermann, A. H., 1953: The vegetative state in the life-cycle of bacteriophage: evidence for its occurrence and its genetic characterization. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. **18**, 3—11.
67. Duggar, B. M. and Armstrong, J. K., 1923: Indications respecting the nature of the infective particles in the mosaic disease of tobacco. Ann. Missouri Botan. Garden **10**, 191—212.
68. Dulbecco, R., 1950: Experiments on photoreactivation of bacteriophages inactivated with ultraviolet radiation. J. Bacter. **59**, 329—347.
69. — —, 1952: Mutual exclusion between related phages. J. Bacter. **63**, 209—217.
70. — —, 1952: Production of plaques in monolayer tissue cultures by single particles of an animal virus. Proc. Nat. Acad. Sci. **38**, 747—752.

70a. DULBECCO, R., and VOGT, M., 1954: Plaque formation and isolation of pure lines with poliomyelitis viruses. J. Exp. Med. **99**, 167—182.

71. DUTTON, L. O., 1926: Role of bacteriophage in *streptococcus* infections. An interpretation of certain cultural characteristics. J. Inf. Dis. **39**, 48—60.

72. EDWARDS, P. R., DAVIS, B. R., and CHERRY, W. B., 1955: Transfer of antigens by phage lysates with particular reference to the 1, w-antigens of *Salmonella*. J. Bacter. **70**, 279—284.

73. ELFORD, W. J., GUÉLIN, A. M., HOTCHIN, J. E. et CHALLICE, C. E., 1953: Le phénomène de la bactériophagie chez les anaérobies (Welchia perfringens). Ann. Inst. Pasteur **84**, 319—327.

74. ELLIS, E. L. and DELBRÜCK, M., 1939: The growth of bacteriophage. J. gen. Physiol. **22**, 365—384.

75. EPHRUSSI-TAYLOR, H., 1951: Genetic aspects of transformations of pneumococci. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. **16**, 445—456.

76. EPSTEIN, H. T., 1953: The properties of bacteriophages. In "Advances in Virus research, Bd. I", siehe 204.

77. EVANS, E. A., 1952: Biochemical studies of bacterial viruses. The university of Chicago Press.

78. — —, 1954: Bacterial viruses. Ann. Rev. Microbiol. **8**, 237—256.

79. FELIX, A., 1953: Bacteriophage not a virus? Siehe 81, S. 203—210.

80. FILDES, P., KAY, D., and JOKLIK, W. K., 1953: Divalent metals in phage reproduction. Siehe 81, S. 194—210.

81. — —, and HEYNINGEN, W. E. VAN, 1953: The nature of virus multiplication. 2nd Symposium of the Soc. for gen. Microbiology. Cambridge, The university Press.

82. FLU, P., 1933: Immunisation des rats contre la peste au moyen de suspensions concentrées des bacilles pesteux virulents lysés par le bactériophages antipesteux. Bull. Soc. Path. Exotique **26**, 796—806.

83. FONG, J., 1949: Bacteriophage. Ann. Rev. Microbiol. **3**, 423—444.

84. FOSTER, R. A. C., 1948: An analysis of the action of proflavin on bacteriophage growth. J. Bacter. **56**, 795—809.

85. FRANCIS, A. E. and RIPPON, J. E., 1949: *Bacillus polymyxa* and its bacteriophages. J. gen. Microbiol. **3**, 425—433.

86. FRASER, D. and DULBECCO, R., 1953: A genetic analysis of the factors controlling the h character in bacteriophage T 3. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. **18**, 15—17.

87. FRÉDÉRIQUE, P., 1953: Colicines et bactériophages. Ann. Inst. Pasteur **84**, 294—312.

88. FREEMAN, V. J., 1951: Studies on the virulence of bacteriophage infected strains of *Corynebacterium diphtheriae*. J. Bacter. **61**, 675—688.

89. — —, and MORSE, I. U., 1952: Further observations on the change to virulence of bacteriophage infected avirulent strains of *Corynebacterium diphtheriae*. J. Bacter. **63**, 407—414.

90. FRIEDMAN, M. and COWLES, PH. B., 1953: The bacteriophages of *Bac. megaterium*. J. Bacter. **66**, 379—385.

91. — —, 1953: The bacteriophages of *Bacillus megaterium*. II. Stability in mono- and divalent ions. J. Bacter. **66**, 501—504.

92. GOEBEL, W. F., BARRY, G. T., JESAITIS, M. A., and MILLER, E. M., 1955: Colicine K. Nature **176**, 700—701.

93. GOTO, M. and IWAHARA, S., 1950: Studies on bacteriophages. I. The action of various compounds against bacteriophages. Bull. Physiograph. Sci. Res. Inst. Tokyo Univ. **4**, 15—20.

94. GOUGH, G. A. C. and BURNET, F. M., 1934: The chemical nature of the phage-inactivating agent in bacterial extracts. J. Path. Bact. **38**, 301—311.

95. GRAHAM, A. F., 1953: The viruses as nucleoproteins. Canad. J. Med. Sci. **31**, 279—289.

96. GROMAN, N. B., 1953: The relation of bacteriophage to the change of *Corynebacterium diphtheriae* from avirulence to virulence. Sci. **117**, 297—299.

97. Groman, N. B., 1953: Evidence for the induced nature of the change from nontoxigenicity to toxygenicity in *Corynebacterium diphtheriae* as a result of exposure to specific bacteriophage. J. Bacter. **66**, 184—191.

98. — —, 1955: Evidence for the active role of bacteriophage in the conversion of nontoxigenic *Corynebacterium diphtheriae* to toxin production. J. Bacter. **69**, 9—15.

99. Guélin, A. M., 1950: Sur la présence du bactériophage perfringens dans les eaux et son rôle dans l'épuration des eaux stagnantes. Ann. Inst. Pasteur **79**, 447—453.

100. Hadley, P., 1928: The Twort-d'Hérelle phenomenon. J. Inf. Dis. **42**, 263—434.

101. Hammarström, E., 1949: Phage typing of Shigella sonnei. Acta med. scand. Stockh. Suppl. **133**, 223.

102. Harm, W., 1955: Genetische Betrachtungen zur Frage der Reinheit von Bakterienkulturen. Zbl. Bakt. I, **162**, 153—159.

103. D'Hérelle, F., 1917: Sur un microbe invisible antagoniste des bacilles dysentériques. C. r. Acad. Sci. **165**, 373—375.

104. — —, 1926: Le bactériophage et son comportement. Paris, Masson & Cie.

105. — —, 1930: The bacteriophage and its clinical application. Übers. von G. H. Smith, Baltimore.

106. Herriott, R. M., 1951: Nucleic-acid-free T 2 virus "ghosts" with specific biological action. J. Bacter. **61**, 752—754.

107. — —, and Barlow, J. L., 1952: Preparation, purification, and properties of *E. coli* virus T 2. J. gen. Physiol. **36**, 17—28.

108. Hershey, A. D., 1946: Spontaneous mutations in bacterial viruses. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. **11**, 67—76.

109. — —, 1946: Mutations of bacteriophage with respect to type of plaque. Genetics **31**, 620—640.

110. — —, and Chase, M., 1952: Independent function of viral protein and nucleic acid in growth of bacteriophage. J. gen. Physiol. **36**, 39—56.

111. — —, and Rotman, R., 1949: Genetic recombination between host-range and plaque-type mutants of bacteriophage in single bacterial cells. Genetics **34**, 44—71.

112. — —, and Dixon, J., and Chase, M., 1953: Nucleic acid economy in bacteria infected with bacteriophage T 2. J. gen. Physiol. **36**, 777—789.

113. Hewitt, L. F., 1952: Diphtheria bacteriophages and their relation to the development of bacterial variants. J. gen. Microbiol. **7**, 362—371.

114. — —, 1953: Influence of bacteriophage on bacterial variation and evolution. In "Adaptation in Micro-organisms", Cambridge, The university Press, S. 276—293.

115. — —, 1954: Autoadaptation of bacterial viruses and its effect on bacterial variation and evolution. J. gen. Microbiol. **11**, 261—271.

116. — —, 1954: Mechanism of virulence transfer by bacterial viruses. J. gen. Microbiol. **11**, 272—287.

117. — —, 1954: The effect of certain antibiotics and other chemotherapeutic agents on lysogenicity and virulence transfer by bacterial viruses in *Corynebacterium diphtheriae*. J. gen. Microbiol. **11**, 288—299.

118. Hotchin, J. E., 1954: The purification and electron microscopic examination of the structure of staphylococcal bacteriophage K. J. gen. Microbiol. **10**, 250—260.

119. Hotchkiss, R. D., 1951: Transfer of penicillin resistance in pneumococci by the desoxyribonucleate derived from resistant cultures. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. **16**, 457—461.

120. Huybers, K., 1953: Cationic reversion of induced phage development in *Bac. megatherium*. Ann. Inst. Pasteur **84**, 242—253.

121. Ivanovics, G. and Alföldi, L., 1954: A new antibacterial principle: megacine. Nature **174**, 465.

122. Jacob, F., 1952: Dévéloppement spontané et induit des bactériophages chez des *Pseudomonas pyocyanea* polylysogènes. Ann. Inst. Pasteur **83**, 671—692.

123. Jacob, F., 1952: Production de bactériophages par action de la méthyl-bis (chloroéthyl)amine sur les bactéries lysogènes. C. r. Acad. Sci. **234**, 2238—2240.

124. — —, Siminovitch, L. et Wollman, E., 1951: Induction de la production d'une colicine par le rayonnement ultraviolet. C. r. Acad. Sci. **233**, 1500—1502.

125. — —, — — et — —, 1952: Sur la biosynthèse d'une colicine et sur son mode d'action. Ann. Inst. Pasteur **83**, 295—315.

126. Joklik, W. K., 1952: The effect of phage infection on the metabolic activity of the host cell. Brit. J. Exp. Pathol. **33**, 368—379.

127. Kalinke, M., 1941: Die Ruhrbehandlung mit Bakteriophagen und Darmdesinfizienten. Med. Welt, S. 785.

128. Karpisek, J., 1947: Contribution à l'emploi du bactériophage dans le traitement de la dysenterie bacillaire. Presse méd., S. 422.

129. Katznelson, H., 1937: Bacteriophage in relation to plant diseases. Bot. Rev. **3**, 499—521.

130. Koerber, W. L., Greenspan, G., and Lanlykke, A. F., 1950: Observation on the multiplication of phage affecting *Streptomyces griseus*. J. Bacter. **60**, 29—37.

131. Kozloff, L., Putnam, F. W., and Evans, E. A., 1951: Precursors of bacteriophage nitrogen and carbon. In "Viruses 1950", siehe 59, S. 55—63.

132. Krenn, J., 1948: Die Bakteriophagie in der Milchwirtschaft. Hochsch. f. Bodenkult. Wien, Jahrb. (1947) **1**, 137—144.

133. Kriss, A. J., 1953: Der Aufbau der Bakteriophagen. Fortschr. gegenwärt. Biol. (russ.) **36**, 346—366.

134. Krüger, A. P., 1936: The nature of bacteriophage and its mode of action. Physiol. Rev. **16**, 129.

135. Lane Barksdale, W. and Pappenheimer, A. M., 1954: Phage-host relationship in nontoxigenic and toxigenic diphtheria bacilli. J. Bacter **67**, 220—232.

136. Latarjet, R., 1953: The multiplication of bacterial viruses studied by radiobiological methods. In "Nature of virus multiplication", S. 175—193, siehe 81.

137. — —, Chamaillard, L. et Morenne, P., 1951: Induction par les rayons X, de la production d'un bactériophage chez *B. megatherium* lysogène. Ann. Inst. Pasteur **81**, 389—393.

138. — —, and Frédérique, P., 1955: An X-ray study of a colicine and of its relationship to bacteriophage T 6. Virology **1**, 100—107.

139. — — et Milétic, B., 1953: Actions des ultra-violets longs et des visibles courts (3400—5500 Å) sur les complexes bactérie-bactériophage. Ann. Inst. Pasteur **84**, 205—217.

140. Lea, D. E., 1955: Actions of radiations on living cells. Cambridge University Press.

141. Ledinko, N., 1955: Production of plaques with influenza virus. Nature **175**, 999—1000.

142. Lembke, A., 1952: Bakteriophagen verursachen Produktionsstörungen in milchwirtschaftlichen Betrieben. Deutsch. Molk.-Ztg. **73**, 282—284.

143. Levaditi, C., Guélin, A. et Vaisman, A., 1953: La phagolessine, antibiotique agissant sur les bactériophages. Rev. d'Immunol. **17**, 324—338.

144. Levine, P. and Frisch. A. W., 1934: On specific inhibition of bacteriophage action by bacterial extracts. J. Exp. Med. **59**, 213—228.

145. Levinthal, C. and Fisher, H. W., 1953: Maturation of phage and the evidence of phage precursors. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. **18**, 29—33.

146. Lieb, M., 1953: The establishment of lysogenicity in *Escherichia coli*. J. Bacter. **65**, 642—651.

147. — —, 1953: Studies on lysogenization in *Escherichia coli*. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. **18**, 71—73.

148. Lipska, I., 1953: L'emploi préventif des intesti-phages chez les nouveaux-nés. VI. Congresso Internaz. di Microbiol. Riass. delle Communicazione II, 209.

149. Lisbonne, M. et Carrère, L., 1922: Antagonisme microbien et lyse transmissible du *Bacille de Shiga*. C. r. Soc. Biol. **86**, 569—570.

150. — — et — —, 1923: Obtention du principe lytique pour le *Bacille de Shiga* par culture filtrée de *B. coli*. C. r. Soc. Biol. **88**, 724—726.

151. Lowbury, E. J. L. and Hood, A. M., 1953: The acquired resistance of *Staphylococcus aureus* to bacteriophage. J. gen. Microbiol. **9**, 524—535.

152. Luria, S. E., 1945: Mutation of bacterial viruses affecting their host-range. Genetics **30**, 84—99.

153. — —, 1947: Reactivation of irridiated bacteriophage by transfer of self-reproducing units. Proc. Nat. Acad. Sci. **33**, 253—264.

154. — —, 1950: Bacteriophage: an essay on virus reproduction. Sci. **111**, 507—511.

155. — —, 1953: General Virology. J. Wiley & Sons, Inc. New York.

156. — —, and Delbrück, M., 1943: Mutations in bacteria from virus sensitivity to virus resistance. Genetics **28**, 491—511.

157. — —, — —, and Anderson, T. F., 1943: Electron microscope studies of bacterial viruses. J. Bacter. **46**, 57—77.

158. — —, and Dulbecco, R., 1949: Genetic recombination leading to production of active bacteriophage from ultraviolet inactivated bacteriophage particles. Genetics **34**, 93—125.

159. — —, and Exner, F. M., 1941: The inactivation of bacteriophages by X-rays. Influence of the medium. Proc. Nat. Acad. Sci. **27**, 370—375.

160. — —, and Human, M. L., 1950: Chromatin staining of bacteria during bacteriophage infection. J. Bacter. **59**, 551—560.

161. Lwoff, A., 1951: Conditions de l'efficacité inductrice du rayonnement ultra-violet chez une bactérie lysogène. Ann. Inst. Pasteur **81**, 370—388.

162. — —, 1952: Rôle des cations bivalents dans l'induction du développement du prophage par les agents réducteurs. C. r. Acad. Sci. **234**, 366—368.

163. — —, 1953: L'induction. Ann. Inst. Pasteur **84**, 225—241.

164. — —, 1953: Lysogeny. Bacter. Revs. **17**, 269—337.

165. — — et Gutmann, A., 1950: Recherches sur un *Bacillus megatherium* lysogène. Ann. Inst. Pasteur **78**, 711—739.

166. — — et Jacob, F., 1952: Induction de la production de bactériophages et d'une colicine par les peroxydes, les éthylène-imines et les halogenoalcoylamines. C. r. Acad. Sci. **234**, 2308—2310.

167. — — et Siminovitch, L., 1952: L'induction du développement du prophage par les substances réductrices. Ann. Inst. Pasteur **82**, 676—689.

168. — —, — — et Kjelgaard, N., 1950: Induction de la production de bactériophages chez une bactérie lysogène. Ann. Inst. Pasteur **79**, 815—859.

169. Maaløe, O. and Symonds, N., 1953: Radioactive sulfur tracer studies on the reproduction of T 4 bacteriophage. J. Bacter. **65**, 177—182.

170. Manson, L. A., 1953: The metabolsm of ribonucleic acid in normal and bacteriophage infected *Escherichia coli*. J. Bacter. **66**, 703—711.

171. Marcovich, H., 1954: A quantitative biological test sensitive to low doses of ionizing radiations. Nature **174**, 796—797.

172. Marcuse, K., 1934: Über Phagendiagnostik innerhalb der Paratyphusgruppe. Zbl. Bakt. I, **131**, 49—53.

173. De Mars, R. I., 1955: The production of phage-related materials when bacteriophage development is interrupted by proflavine. Virology **1**, 83—99.

174. De Mars, R. I., Luria, S. E., Fischer, H., and Leventhal, C. 1953: The production of incomplete bacteriophage particles by the action of proflavine, and the production of incomplete particles. Ann. Inst Pasteur **84**, 113—128.

175. Maxted, W. R., 1955: The influence of bacteriophage on *Streptococcus pyogenes.* J. gen. Microbiol. **12**, 484—495.

176. Mills, R. F. N., 1953: The action of 2 : 7-bis (2′-dihydro-glyoxalinyl)-9-phenylphenanthridine on a bacteriophage of *Pseudomonas pyocyanea.* Brit. J. Pharmacol. **8**, 143.

177. — —, 1955: Properties of a small bacteriophage and the action of some compounds on it. J. gen. Microbiol. **12**, 172—179.

178. Morton, H. E. and Engley, F. B., 1944: Protective action of dysentery bacteriophage in experimental infections in mice. J. Bacter. **47**, 475.

179. Muller, H. J., 1922: Variation due to change in the individual gene. Am. Naturalist **56**, 32—50.

180. Murray, R. G. I. and Whitfield, J. F., 1953: Cytological effects of infection with T 5 and some related phages. J. Bacter. **65**, 715—726.

181. Newbould, F. H. S., 1953: An actinophage for *Streptomyces scabies.* Rev. Can. Biol. **11**, 514.

182. — —, and Garrard, E. H., 1954: Studies on actinophage for *Streptomyces scabies* (Thaxt.) Waksman and Henrici. Can. J. Bot. **32**, 386—391.

183. Northrop, J. H., 1938: Concentration and purification of bacteriophage. J. gen. Physiol. **21**, 335.

184. — —, 1940: Increase in bacteriophage and gelatinase concentration in cultures of *Bac. megatherium.* J. gen. Physiol. **23**, 59.

185. Pardee, A. B. and Williams, I., 1953: Enzymatic activity and bacteriophage infection. III. Increase of desoxyribonuclease. Ann. Inst. Pasteur **84**, 147—156.

186. Parsons, E. I. and Frobisher, M., 1951: Effect of bacteriophage on virulence of *Corynebacterium diphtheriae.* Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. **78**, 746—747.

187. Pesch, K. L. und Raentsch, F., 1940: Die Bakteriophagentherapie. Erg. Hyg. **23**, 194—293.

188. Potter, N. N. and Nelson, F. E., 1952: Effect of calcium on proliferation of lactic streptococcus bacteriophage. I. Studies on plaque formation with a modified plating. J. Bacter. **64**, 105—111.

189. — — and — —, 1952: Fortsetzung von 188. II. Studies of optimum concentration in a partially defined medium. J. Bacter. **64**, 113—119.

190. — —, — —, 1953: Role of calcium and related ions in proliferation of lactic streptococcus bacteriophage. J. Bacter. **66**, 508—516.

191. Price, W. H., 1952: Bacterial viruses. Ann. Rev. Microbiol. **6**, 333—348.

192. Putnam, F. W., 1953: Bacteriophage: Nature and origin. Adv. Protein Chem. **8**, 175—284.

193. Raettig, H. J. und Hofmann, S., 1954: Die Vorteile der Farbindikatorplatte in der experimentellen Arbeit mit Bakteriophagen. Zbl. Bakt. I, **161**, 121—124.

194. — —, 1955: Chemische Inaktivierung von Bakteriophagen durch Triäthylenmelamin (TEM). Zbl. Bakt. I, **163**, 245—247.

195. — —, und Uecker, W., 1955: Inaktivierung von Bakteriophagen durch Äthyleniminderivate. Naturwiss. **42**, 490.

196. Reilley, H. Chr., Harris, D. A., and Waksman, S. A., 1947: An actinophage for *Streptomyces griseus.* J. Bacter. **54**, 451—466.

197. Rice, M. M., McCoy, E., and Knight, S. G., 1954: Bacteriophagy of *Streptomyces griseus* as revealed by phase microscope. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med. **86**, 344—345.

198. ROUNTREE, PH. M., 1955: The role of divalent cations in the multiplication of staphylococcal bacteriophages. J. gen. Microbiol. **12**, 275—287.

199. SAUDEK, E. C. and COLINGSWORTH, D. R., 1947: A bacteriophage in the streptomycin fermentation. J. Bacter. **54**, 41—42.

200. SCHMIDT, A., 1931: Über die Verwendung des Bakteriophagen in der Typhus- und Paratyphusdiagnose. Zbl. Bakt. I, **123**, 207—212.

201. SCHRAMM, G., 1954: Die Biochemie der Viren. Springer-Verl.

202. SEIFFERT, G., 1941: Über die Verwendung von Bakteriophagen zur Ruhrbekämpfung. Münch. Med. Wschr., S. 641.

203. SIMINOVITCH, L. and RAPKINE, S., 1952: Biochemical modifications in lysogenic *B. megatherium* 899 (1) after induction with ultraviolet light. Biochim. et biophys. Acta **9**, 478—487.

204. SMITH, K. M. and LAUFFER, M. A., 1953: Advances in virus research. Bd. I. New York, Academic Press Inc.

205. SMITH, R. M., KUHN, W. H., and MIESEL, G. R. M., 1947: An actinophage in streptomycin-producing cultures of *Streptomyces griseus*. J. Bacter. **54**, 545.

206. SPIEGELMAN, S. and LANDMAN, O. E., 1954: Genetics of microorganisms. Ann. Rev. Microbiol. **8**, 181—236.

207. STANLEY, W. M., 1935: Isolation of a crystalline protein possessing the properties of tobacco-mosaic virus. Sci. (Lanc.) **81**, 644—645.

208. STRELITZ, FR., FLON, H., and ASHESHOV, I. N., 1955: Chrysomycin: A new antibiotic substance for bacterial viruses. J. Bacter. **69**, 280—283.

209. TETI, M., 1954: Essai de restauration par la catalase après irradiation ultraviolette d'une bactérie lysogène non inductible. C. r. Soc. Biol. **148**, 210—212.

210. THEILER, M., 1937: Spontaneous encephalomyelitis of mice, a new virus disease. J. Exp. Med. **65**, 705—719.

211. TRAUB, E., 1939: Epidemiology of lymphocytic choriomeningitis in a mouse stock observed for four years. J. Exp. Med. **69**, 801—817.

212. TWORT, F. W., 1915: An investigation on the nature of ultramicroscopic viruses. Lancet **189**, 1241—1243.

213. UETAKE, H., NAKAGAWA, T., and AKIBA, T., 1955: The relationship of bacteriophage to antigenic changes in group E Salmonellas. J. Bacter. **69**, 571—579.

214. Viruses, 1953. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. **18**, New York.

215. VISCONTI, N., 1953: Resistance to lysis from without in bacteria infected with T 2 bacteriophage. J. Bacter. **66**, 247—253.

216. WAHL, R. et FOUACE, J., 1954: Isolement et emploi de phages nouveaux pour identifier des souches de staphylococces pathogènes invisibles aux phages classiques. Ann. Inst. Pasteur **86**, 161—168.

217. — —, et MARTIN-MONCEAUX, G., 1954: Les effets inhibiteurs des phages sur la croissance des cultures bactériennes et la notion d'efficacité d'une race de phage sur une souche de bactéries. Ann. Inst. Pasteur **86**, 589—601.

218. — — et — —, 1954: Évaluation de «l'efficacité» d'une race de phages sur une souche de bactéries. Ann. Inst. Pasteur **86**, 729—740.

219. — — et — —, 1954: Le «pouvoir antiinfectieux» chez les souris des préparations de phages activés sur *Sal. enteritides* var. *Danysz* et sur *Sal. typhi-murium* et ses relations avec leur «efficacité» in vitro. Ann. Inst. Pasteur **87**, 61—73.

220. WASSERMANN, M. M. and SAPHRA, I., 1955: The use of bacteriophages in typing *Salmonella* cultures. J. Bacter. **69**, 97—100.

221. — —, and SELIGMANN, E., 1953: *Serratia marcescens* bacteriophages. J. Bacter. **66**, 119—120.

222. WATSON, J. D., 1950: The properties of X-ray inactivated bacteriophage. I. J. Bacter. **60**, 697—718.

223. Watson, J. D., 1952 The properties of X-ray inactivated bacteriophage. II. J. Bacter. **63**, 473—485.

224. — —, and Crick, F. H. C., 1953: A structure for desoxyribose nucleic acid. Nature **171**, 737—738.

225. — — and — —, 1953: Genetical implications of the structure of desoxyribonucleic acid. Nature **171**, 964—967.

226. Weed, L. L. and Courtenay, Th. A., 1954: A new nucleotide and a new polynucleotide from bacteriophage nucleic acid. J. Biol. Chem. **20 b**, 735—740.

227. Weidel,, W., 1949/50: Bakteriophagen. Fortschr. Bot. **13**, 340—381.

228. — —, 1951: Über die Zellmembran von *Escherichia coli* B. Z. Naturforschg. **6 b**, 251—259.

229. — —, 1953: Entwicklung und Problematik der Virusforschung. Verh. Ges. Dtsch. Naturforscher u. Ärzte. 97. Versammlg. Springer-Verl.

230. — —, Koch, G. und Lohss, F., 1954: Über die Zellmembran von *Escherichia coli* B. II. Der Rezeptorkomplex für die Bakteriophagen T 3, T 4 und T 7. Vergleichende chemisch-analytische Untersuchungen. Z. Naturforschg. **9 b**, 398—406.

231. — —, — — und Bobosch, K., 1954: Über die Rezeptorsubstanz für den Phagen T 5. Z. Naturforschg. **9 b**, 573—579.

232. — —, 1954: L-Gala-α-mano-heptose als Baustein von Bakterienzellwänden. Hoppe-Seyl. Z. physiol. Chem. **299**, 253—257.

233. — —, 1954: Bakteriophagen. Fortschr. Bot. **15**, 513—542.

234. Weigle, J. J. and Delbrück, M., 1951: Mutual exclusion between an infecting phage and a carried phage. J. Bacter. **62**, 301—318.

235. — —, and Dulbecco, R., 1953: Induction of mutation in bacteriophage T 3 by ultraviolet light. Exper. **9**, 372.

236. — —, 1953: Induction of mutations in a bacterial virus. Proc. Natl. Acad. Sci. (USA) **39**, 628—636.

237. Whitehead, H. R., 1953: Bacteriophage in cheese manufacture. Bacter. Rev. **17**, 109—123.

238. Whitfield, J. F. and Murray,, R. G. E., 1955: A cytological study of the lysogenization of *Shigella dysenteriae* with P 1 and P 2 bacteriophages. Can. J. Microbiol. **1**, 216—226.

239. Wieringa, K. T. und Wiebols, G. L. W., 1936: De Aardappelschurft en de heterolyse der Schurftparasit. Plant. Ziekt. **42**, 235—240.

240. Wilkowske, H. H., Nelson, F. E., and Parmelee, C. E., 1954: Serological classification of bacteriophages active against lactic acid bacteria. Appl. Microbiol. **2**, 243—249.

241. Williams-Smith, H., 1953: The effect of physical and chemical changes on the liberation of phage particles by lysogenic strains of *Salmonella*. J. gen. Microbiol. **8**, 116—134.

242. Williams, R. G. and Fraser, D., 1953: Morphology of the seven T-bacteriophages. J. Bacter. **66**, 458—464.

243. Wollmann, E., 1927: Recherches sur la bactériophagie (Phénomène Twort-d'Hérelle). Ann. Inst. Pasteur **41**, 883—918.

244. — —, 1928: Bactériophagie et processus similaires. Hérédité ou infection? Bull. Inst. Pasteur **26**, 1—14.

245. — — et Wollmann, E., 1932: Recherches sur le phénomène de Twort-d'Hérelle (Bactériophagie). Ann. Inst. Pasteur **49**, 41.

246. Woodruff, H. B., Nunheimer, T. D., and Lee, S. B., 1947: A bacterial virus for *Actinomyces griseus*. J. Bacter. **54**, 535—541.

247. Wyatt, G. R. and Cohen, S. S., 1952: A new pyrimidine-base from bacteriophage nucleic acids. Nature 170, 1072—1073.

248. — — and — —, 1953: The bases of the nucleic acids of some bacterial and animal viruses: the occurrence of 5-hydroxy-methyl-cytosin. Bioch. J. **55**, 774—782.

249. Zelle, A. and Hollaender, A., 1954: Monochromatic ultraviolet action spectra and quantum yields for inactivation of T 1 and T 2 *Escherichia coli* bacteriophages. J. Bacter. **68**, 210—215.

250. Zinder, N. D. and Lederberg, J., 1952: Genetic exchanges in *Salmonella*. J. Bacter. **64**, 679—699.

TEIL II

1. Adam, D. B. and Pugsley, A. T., 1934: "Smooth-rough" variation in *Phytomonas medicaginis phaseolicola* Burk. Austr. J. Exp. Biol. and Med. Sci. **12**, 193—202.

2. Allen, E. K. and Allen, O. N., 1950: Biochemical and symbiotic properties of the *Rhizobia*. Bacter. Rev. **14**, 273—330.

3. Anderson, H. W., 1928: Bacteriophage of *B. pruni*. Phytopathology **18**, 144.

4. Arnaudi, C., 1928: Sull immunita acquisita nei vegetali. Atti. Soc. Ital. Sci. Nat., Milano, **64**, 230—238.

5. Balassa, R., 1955: In vivo induzierte Transformationen bei Rhizobien. Naturwiss. **42**, 422—423.

6. Bernstein, L. B. and Eisenstark, A., 1955: A method for the production of high-titer stocks of bacteriophages of *Xanthomonas pruni*. Phytopathology **45**, 580.

7. Biberdieva, M. P., 1936: The bacteriophage of *Bact. mori*, the etiologic agent of mulberry bacteriosis. Microbiol. (russ.) **4**, 590—591.

8. Brown, N. A., 1923: Experiments with Paris daisy and rose to produce resistance to grown gall. Phytopathology **13**, 87—99.

9. — — and Quirk, A. J., 1929: Influence of bacteriophage on *Bacterium tumefaciens* and some potential studies on filtrates. J. Agric. Res. **39**, 503—530.

10. Bruch, C. W. and Allen, O. N., 1955: Description of two bacteriophages active against *Lotus rhizobia*. Proc. Am. Soil. Sci. Soc. **19**, 175—179.

11. Chapman, G., Hillier, J., and Johnson, F. H., 1951: Observations on the bacteriophagy of *Erwinia carotovora*. J. Bacter. **61**, 261—268.

12. Chester, K. S., 1933: Studies on bacteriophage in relation to phytopathogenic bacteria. Zbl. Bakt. II, **89**, 1—30.

13. Coons, G. H. and Kotila, J. E., 1925: The transmissable lytic principle (BP) in relation to plant pathogens. Phytopathology **15**, 357—370.

14. Crownover, R., Mandell, J. D., and Eisenstark, A., 1950: Studies of a bacterial virus active against *Xanthomonas pruni* (Holmes). Proc. Okla. Acad. Sci. **31**, 40—42.

15. Demolon, A. et Dunez, A., 1935: Recherches sur le rôle du bactériophage dans la fatigue des luzernières. Ann. Agron. (France) **5**, 89—111.

16. Dufrénoy, J., 1934: Effets d'un bactériophage sur l'appareil vacuolaire du *Bactérium tabacum*. C. r. Soc. Biol. **117**, 373—374.

17. — —, 1935: La bactériophagie en agronomie tropicale. Rev. Bot. Appl. Agron. Trop. **15**, 497—506.

18. Duyfjes, H. G. P., 1935: Het problem der actieve immunisatie van planten tegen *Pseudomonas tumefaciens* Smith en Town. Proefschr. Univ. Utrecht.

19. Eisenstark, A. and Bernstein, L. B., 1955: Specificity of bacteriophages of *Xanthomonas pruni*. Phytopathology **45**, 596—598.

20. EISENSTARK, A., GOLBERG, S. S., and BERNSTEIN, L. B., 1955: Lisogenicity in *Xanthomonas pruni.* J. gen. Microbiol. **12**, 402—405.

21. — —, and THORNBERRY, H. H., 1950: Plaque formation by *Xanthomonas pruni* bacteriophage. Phytopath. **40**, 876—877.

22. FULTON, R. W., 1950: Bacteriophages attacking *Pseudomonas tabaci* and *P. angulatum.* Phytopathology **40**, 936—949.

23. GERRETSEN, F. C., GRIJNS, A., SACK, J. und SÖHNGEN, N. L., 1924: Das Vorkommen von Bakteriophagen in den Wurzelknöllchen der Leguminosen. Zbl. Bakt. II, **60**, 311—316.

24. D'HÉRELLE, F. et PEYRE, E., 1927: Contribution à l'étude des tumeurs expérimentales. C. r. Acad. Sci. **185**, 227—230.

25. HITCHNER, E. R., 1930: The isolation of a bacteriolytic principle from the root nodules of red clover. J. Bacter. **19**, 191—201.

26. HOFER, A. W., 1954: Description of a virus that destroys the root nodule bacteria of peas. Soil Sci. **77**, 435—436.

27. ISRAILSKY, W. P., 1926: Phänomen d'Hérelle und Pflanzenkrebs. Ber. bakt. agron. Sta. Moskow (russ.) **24**, 143—157.

28. — —, 1926: Bakteriophagie und Pflanzenkrebs. Zbl. Bakt. II, **67**, 236—242.

29. — —, 1927: Bakteriophagie und Pflanzenkrebs. Zbl. Bakt. II, **71**, 302—311.

30. — —, and CHISTOSERDOVA, G. V., 1938: Serodiagnostics of some fluorescent phytopathogenic bacteria. Microbiol. (russ.) **7**, 809—828.

31. — —, and ARTEMIEVA, Z. S., 1939: Biological properties of the agent *(Bacterium mori)* of Mulberry-tree bacteriosis. Microbiol. (russ.) **8**, 888—898.

32. JACZEWSKI, A. A., 1926: Bacteriophages considered from a phytopathological point of view. Matt. concern. Mycol. and Phytopath. Russia **5**, 12 pp.

33. KALIAYEFF, A. W., 1936: Immunité acquise des plantes. Traitement et prophylaxie des tumeurs de *Pelargonium zonale* provoquées par le *Bacillus tumefaciens.* Bull. Biol. Méd. exp. USSR **1**, 387—388.

34. KATZNELSON, H., 1937: Bacteriophage in relation to plant diseases. Bot. Rev. **3**, 499—521.

35. — —, 1950: The detection of internally-borne bacterial pathogens of beans by a rapid phage-plaque count technique. Sci. **112**, 645—647.

36. — —, and SUTTON, M. D., 1951: A rapid phage plaque count method for detection of bacteria as applied to the demonstration of internally borne bacterial infections of seed. J. Bacter. **61**, 689—701.

37. — —, and — —, 1953: Bacteriophage in relation to *Xanthomonas translucens.* Can. J. Bot. **31**, 725—729.

38. — —, — —, and BAILEY, S. T., 1954: The use of bacteriophage of *Xanthomonas phaseoli* in detecting infection in beans, with observations of its growth and morphology. Can. J. Microbiol. **1**, 22—29.

39. KAUFFMANN, F., 1929: Zur Tumefaciensfrage. Z. Krebsforschg. **28**, 109—120.

40. — —, 1929: Zur Biologie der Tumefaciensstämme. Z. Krebsforschg. **30**, 290—294.

41. KAWAMURA, E., 1940: Bacteriophage of *Bacterium solanacearum.* Sci. Bull. Fac. Agric. Kyushu Univ. **9**, 148—156.

42. KENT, G. C., 1937: Some physical, chemical, and biological properties of a specific bacteriophage of *Pseudomonas tumefaciens.* Phytopath. **27**, 871—902.

43. KIRCHNER, C. E. J., 1954: The antigenic relationship of bacteriophages against *Xanthomonas pruni.* Thesis. Kansas State College.

44. KLECZKOWSKA, J., 1953: Some substances that inhibit bacteriophage muliplication in liquid cultures of *Rhizobium.* VI Congresso internazionale di microbiologia. Riass. delle communicazioni II, 205—206.

45. Kleczkowska, J., and Kleczkowski, A., 1952: Effect of specific polysaccharides from the host bacteria and of ribonuclease on the multiplication of *Rhizobium* phages. J. gen. Microbiol. **7**, 340—349.

46. — —, — —, 1953: The behavior of *Rhizobium* bacteriophages during and after exposure to ultraviolet radiation. J. gen. Microbiol. **8**, 135—144.

47. — —, — —, 1954: A study of the mechanism of inhibition of bacteriophage multiplication by chymotrypsin. J. gen. Microbiol. **10**, 285—293.

48. — —, — —, 1954: The effect of ribonuclease on phage-host interaction. J. gen. Microbiol. **11**, 451—458.

49. Laird, D. G., 1932: Bacteriophage and the root nodule bacteria. Arch. Mikrobiol. **3**, 159—193.

50. Mallman, W. L., and Hemstreet, C., 1924: Isolation of an inhibitory substance from plants. J. Agric. Res. **28**, 599—602.

51. Mandell, J. D. and Eisenstark, A., 1952: Bacterial viruses active against *Xanthomonas pruni*. Differentiation of genetic types. Monthly Res. Rep., Office of Naval Res., April 1—4.

52. — —, and — —, 1953: Factors affecting plaque formation by *Xanthomonas pruni* bacteriophages. Phytopathology **43**, 27—29.

53. Massey, R. E., 1931: Studies on blackarm disease of cotton. Empire Cotton Growing Rev. **8**, 187—213.

54. — —, 1934: Final report on experimental work in 1932—1933. Ann. Rep. Agric. Res. Serv., pp. 126—146.

55. — —, 1934: Studies on blackarm disease on cotton. Empire Cotton Growing Rev. **11**, 188—193.

56. Matsui, C., 1951: On the adsorption of *Solanacearum* phage on *Bact. solanacearum* Smith strain S. Kyushu Univ. Facul. Agric. Sci. B **13**, 36—39.

57. — —, 1951: On the relationship between temperature and activity of *Solanacearum* phage. Ebenda, 40—44.

58. — —, 1952: Relation of temperature to the activity of *Solanacearum* phage. Ann. phytopath. Soc. Japan **16**, 34.

59. — —, 1952: Inactivation of SP 1 virus (*Solanacearum* phage) by ultraviolet light. Sci. Bull. Fac. Agric. Kyushu Univ. **12**, 321—325.

60. — —, 1953: Studies on the growth of SP 1 virus (*Bact. solanacearum* phage) and its mutant strain. Ebenda, **14**, 43—49.

61. — —, 1953: On the interference phenomenon between SP 1 virus and SP 1 h 1 virus. Ebenda, **14**, 51—56.

62. Matsumoto, T., 1939: Phage-produced resistant strains of *Bac. aroideae*. I. Resistant strains appeared in culture solutions. Trans. nat. Hist. Soc. Formosa **29**, 317—338.

63. — —, 1940: Phage-produced resistant strains of *Bacillus aroideae*. II. The behaviour of the organisms in phage-inoculated sand cultures. Ebenda, **30**, 89—98.

64. — —, 1941: Phage-produced resistant strains of *Bacillus aroideae*. III. Culture in soils and host plants. Ebenda, **31**, 145—154.

65. — —, and Huzioka, Y., 1938: Bacteriophage in relation to *Bacterium malvacearum* E. F. S. I. Preliminary study. Ann. phytopath. Soc. Japan **7**, 193—202.

66. — —, and Okabe, N., 1935: Bacteriophage in relation to *B. solanacearum*. I. Temperature relation, specificity, and serological reactions. J. Soc. Trop. Agric. **7**, 130—139.

67. — —, and — —, 1937: Bacteriophage in relation to *Bacterium solanacearum*. II. Further studies on the phage and antiphage serum. Ebenda, **9**, 205—213.

68. Matsumoto, T., and Okabe, N., 1937: Preliminary note on the bacteriophage for *Bacterium citri* (Hasse) Doidge. Agric. Hortic. Japan **12**, 2055—2059.

69. — —, and Sawada, Y., 1938: Bacteriophage specific for *Bacillus aroideae*. Trans. nat. Hist. Soc. Formosa **28**, 247—256.

70. Miyake, I. and Hamada, M., 1952: Studies on the bacteriophage specific for *Bacillus carotovorus*, the causal organism of soft rot of carrot. Ann. phytopath. Soc. Japan **16**, 181.

71. Moore, E. S., 1926: D'Hérelle's bacteriophage in relation to plant parasites. South Afr. J. Sci. **23**, 306.

72. — —, 1927: Studies on the overwintering, dissemination, and control of wildfire. Union South Afr. Dept. Agric. Sci. Bull. **54**.

73. Muncie, J. H. and Patel, M. K., 1929: Potency and specificity of a lytic principle (bacteriophage) obtained from *Pseudomonas tumefaciens*. Phytopathology **19**, 98.

74. — —, and — —, 1930: Studies upon a bacteriophage specific for *Pseudomonas tumefaciens*. Phytopathology **20**, 289—305.

75. Newbould, F. H. S., 1953: An actinophage for *Streptomyces scabies*. Rev. Can. Biol. **11**, 514.

76. — —, and Garrard, E. H., 1954: Studies on actinophage for *Streptomyces scabies* (Thaxt.) Waksman and Henrici. Can. J. Bot. **32**, 386—391.

77. Novikowa, N. C., 1940: Spontaneous formation of bacteriophage and variation in the lysosensibility of *B. tabacum* cultures in makhorka leaves infected by wildfire. Mikrobiol. Zhurnal (Kiew) **7**, 97—103.

78. — —, 1940: Bacteriophage prophylaxis against bacterial wildfire in makhorka tobacco. Ebenda, **7**, 127—140.

79. — — und Popowa, O. O., 1938: Feldversuche mit Bakteriophagen zur Bekämpfung der Blattfleckenkrankheit bei *Nicotiana rustica*. Ebenda, **3**, 75—79.

80. Okabe, N., 1937: Studies on the variation of *Bacterium solanacearum* (Preliminary report). Ann. phytopath. Soc. Japan **7**, 95—104.

81. — —, 1938: Bacteriophage in relation to *Bacterium malvacearum*. Relation between variants and phage. Ebenda, **8**, 230—246.

82. — —, and Goto, M., 1953: Studies on *Pseud. solanacearum*. I. Classification of the strain by bacteriophages and virulence of the strains. Rep. Facul. Agric., Shizuoka Univ., Iwata, Japan **3**, 52—80.

83. — —, and — —, 1953: Studies on *Pseud. solanacearum*. II. A comparative study of *Pseud. solanacearum* bacteriophages. Ebenda, **3**, 81—100.

84. — —, and — —, 1953: Studies on *Pseud. solanacearum*. III. Some investigations on virus-resistant strains. Ebenda, **3**, 101—127.

85. — —, 1954: Studies on *Pseud. solanacearum*. IV. Several lysogenic strains. Ebenda, **4**, 28—36.

86. — —, 1954: Studies on *Pseud solanacearum*. V. Antagonism among the strains of *Pseud. solanacearum*. Ebenda, **4**, 37—40.

87. — —, and Goto, M., 1954: Studies on *Pseud. solanacearum*. VI. A comparative study of the colony type organisms, F and Op. Ebenda, **4**, 41—60.

88. — —, and Naito H., 1954: Studies on *Pseud. solanacearum*. VII. Lysotypes of the tobacco wilt pathogens in Japan. Ebenda, **4**, 61—66.

89. Parker, T. and Allen, O. N., 1954: Characterization of four phages active against *Rhizobium meliloti*. Bacter. Proc. 49—50.

90. Quirk, A., 1932: A five-fold technique for producing the filtrable form of *B. phytophthorus*. J. Bacter. **23**, 29—30.

91. Rosberg, D. W. and Parrack, A. L., 1955: The electron microscopy of a bacteriophage attacking *Xanthomonas malvacearum*. Phytopathology **45**, 49—51.

92. Sutton, M. D. and Katznelson, H., 1953: Isolation of bacteriophages for the detection and identification of some seed-borne pathogenic bacteria. Can. J. Bot. **31**, 201—205.

93. Thomas, R. C., 1935: A bacteriophage in relation to Stewart's disease of corn. Phytopathology **25**, 371—372.

94. — —, 1937: Bacteriophage inhibiting *Apl. stewartii* distribution. Ohio Agric. Exp. Sta. Bull. **579**, 40—41.

95. — —, 1938: The bacteriophage as an aid in identification of isolations of bacteria. Ebenda, **592**, 40.

96. — —, 1938: Transmissible lysins in water extracts of seeds. Sci. **88**, 56—57.

97. — —, 1940: Additional facts regarding bacteriophage lytic to *Aplanobacter stewartii*. Phytopathology **30**, 602—611.

98. — —, 1943: The bacteriophage reaction as a means of quick identification of pathogenic bacteria. Phytopathology **33**, 1119—1120.

99. — —, 1945: The bacteriophage as a means of identifying bacteria. Ohio Agric. Exp. Sta. Bull. **659**, 175—176.

100. — —, 1947: The bacteriophage reaction for the identification of bacteria. Ohio Agric. Exp. Sta. Techn. Bull. **11**.

101. Thornberry, H. H., 1935: Particle diameter of certain plant viruses and *Phytomonas pruni* bacteriophage. Phytopathology **25**, 938—946.

102. — —, Brown, A. C., and Elrod, R. P., 1949: Application of the bacteriophage-lysis technique for the identification of plant pathogenic bacteria. Phytopathology **39**, 152—153.

103. — —, Eisenstark, A., and Anderson, W. H., 1948: Studies on *Xanth. pruni* bacteriophage. Phytopathology **38**, 26—27.

104. — —, — —, and — —,. 1948: Studies on the bacteriophage of *Xanthomonas pruni*. Phytopathology **38**, 907—911.

105. Tschistossjerdowa, G. W., 1938: Das Studium der Eigenschaften der Bakteriophagen von einigen phytopathogenen Bakterien. Mikrobiol. (russ.) **7**, 112—118.

105a. Tsujita, M., and Matsui, C., 1955: A double lysogenic strain of *Pseudomonas solanacearum*. Proc. Japan Acad. **31**, 180—185.

106. Vandecaveye, S. C. and Katznelson, H., 1936: Bacteriophage as related to the root nodule bacteria of alfalfa. J. Bacter. **31**, 465—477.

107. Verona, O., 1935: Batteriofago e agricoltura. Italia Agric., Rom, **72**, 657—663.

108. Vinogradowa, O. S. and Pershina-Mansirewa, S. G., 1937: Prophylactic action of the bacteriophage on the formation of the crown gall induced by *B. tumefaciens*. Bull. Biol. Med. exp. USSR (russ.) **4**, 275—278.

109. Wakimoto, S., 1954: Biological and physiological properties of *Xanthomonas oryzae* phage. Kyushu Univ. Facul. Agric. Sci., B, **14**, 485—493.

110. — —, 1954: The determination of the presence of *Xanthomonas oryzae* by phage technique. Ebenda, **14**, 495—498.

111. — —, 1955: Studies on the multiplication of OP 1 phage (*Xanthomonas oryzae* phage). Ebenda, **15**, 151—160.

112. — —, and Yoshii, H., 1955: Quantitative determination of the population of a bacteria by the phage technique. Ebenda, **15**, 161—169.

113. Wang, G., 1937: Review of the studies on bacteriophagy in the phytopathological field. Ent. and Phytopath., Hangchow, **5**, 368—375.

114. Wieringa, K. T. and Wiebols, G. L. W., 1936: De Aardappelschurft en de heterolyse der schurftparasiet. Plant. Ziekt. **42**, 235—240.

115. Fifty-fourth Annual Report of the Ohio Agricultural Experiment Station 1934—35. Bull. Ohio agric. Exp. Sta. **561**, 133 pp., 1936.

116. Report of Proceedings, Second International Congress for Microbiology, London, 1936. Harrison & Sons, Ltd., London, 579 pp., 1937.

117. Fifty-fifth Annual Report of the Ohio Agricultural Experiment Station 1935—36. Bull. Ohio agric. Exp. Sta. **579**, 139 pp., 1937.

118. Abstract of the investigations of the Plant Protection Station of the Pan-Soviet Institute for Scientific Research on Cotton. Pl. Prot., Leningrad, **15**, 99—112, 1937.

119. Botany and plant pathology section. Rep. Ia agric. Exp. Sta. 1936—37, I, 108—128, 1937.

120. Botany and plant pathology section. Ebenda, 1937—38, 103—121, 1938.

121. Botany and plant pathology. Rep. Ohio agric. Exp. Sta., 1936—37, Bull. **592**, 34—40, 1938.

Kurze Mitteilung

Department of Biology, Vanderbilt University, Nashville, Tenn., U.S.A.

The Production of Indole Acetic Acid by the Cedar Apple Rust Fungus, and Its Identification by Paper Chromatography

By

F. T. WOLF

In studying the parasitism of the rust, *Endophyllum Sempervivi* Lev., on *Sempervivum tectorum* L., PILET (1) noted a number of morphological differences between healthy and diseased leaves. Parasitized leaves were longer and had narrower bases than healthy leaves, were less green than normal, and the purple tint characteristic of normal leaves was not present. Since only about a dozen at most of the 30 leaves composing the basal rosette of the host became infected, the contrast between healthy and diseased leaves was striking. These morphological differences suggested a disturbed hormonal balance in the infected areas. Chloroform extracts of leaves were therefore assayed for auxin by the *Avena* coleoptile test. Normal leaves were found to contain 10^{-7} M indole acetic acid (IAA), while the IAA content of diseased leaves in the vicinity of the rust lesions reached 10^{-4} M, higher than normal by a factor of 1000. In similar studies with the rust *Uromyces pisi* (Pers.) de Bary, parasitic on *Euphorbia Cyparissias* L., PILET (2) found that the indole acetic acid content of diseased leaves was 10^{-4} M, as compared with 10^{-6} M for healthy leaves. HIRATA (3) has made similar studies with the aecial stages of three different rusts; *Gymnosporangium Haraeanum* on *Pyrus montana* var. *Rehderi*, *Puccinia Caricis blepharicarpae* on *Smilax China*, and *Uromyces Alopecuri* on *Ranunculus Vernyii* var. *glabe*. Analysis of the free auxin content by the *Avena* coleoptile test indicated 1.6, 5.0, and 13.4 times as much auxin, respectively, in diseased as in comparable healthy tissues.

The origin of this excess of indole acetic acid in rust-infected plants is unknown. PILET (1, 2) suggested three possibilities: a). It may be produced by the rust fungus, b). The host may react to the presence of the parasite by making increased quantities of auxin, or c). An interaction may be

involved in which the parasite activates the transformation of auxin precursors present in the host into active auxin. PILET further suggested that a solution to this problem might be obtained if it were possible to examine pure cultures of rust fungi.

HOTSON and CUTTER (4) and CUTTER (5) reported the isolation and culture upon artificial media of the cedar apple rust fungus, *Gymnosporangium juniperi-virginianae* Schw. Isolation from the telial host, *Juniperus virginiana* L., was accomplished by a tissue culture technique. This rust was shown to be able to grow upon a variety of laboratory media, and to have no unusual nutritional requirements. It appeared to be of interest, therefore, to study cultures of *G. juniperi-virginianae* with regard to indole acetic acid production, in an effort to explain the high levels of this substance which appears to characterize rust-infected plants.

A culture of *G. juniperi-virginianae* was kindly provided by Dr. V. M. CUTTER, Jr., Womans College, University of North Carolina, Greensboro, N.C. Stock cultures of the organism were grown at room temperature on slants of Czapek's agar, containing sucrose, 30.0 gm.; $NaNO_3$, 3.0 gm.; KH_2PO_4, 1.0 gm.; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0.5 gm.; KCl, 0.5 gm.; $FeCl_3$, trace; and agar, 20.0 gm. per liter. Transfers were made at intervals of about three weeks. The basal medium used in studies of indole acetic acid production was modified from the preceding by omission of the agar and the addition of 10 mg./l. of yeast extract, which was added for the reason that *Gymnosporangium* has been reported to require biotin (5). The medium was dispensed in 50 ml. quantities in 125 ml. Erlenmeyer flasks, sterilized by autoclaving, inoculated, and the cultures were incubated at room temperature. Preliminary trials showed that growth in this liquid medium was very slow. For this reason, the flasks were placed on a rotary shaker operated at the rate of 80 r.p.m., which resulted in considerable improvement in the growht rate. Under these conditions, the fungus occurs in the form of small brownish pellets, quite hard in texture.

Tests for the presence of IAA in the culture filtrates were made using the ferric chloride-perchloric acid method of GORDON and WEBER (6). No IAA was detectable in the uninoculated medium, or in filtrates from cultures one month old. When, however, 0.1 per cent *L*-tryptophane was added to the basal medium, and aliquots of the medium were withdrawn at intervals for testing, upon addition of the reagent the faint pink color indicative of the presence of IAA was noted as early as ten days following inoculation, The color intensity increased with longer incubation periods.

Estimates of the concentration of IAA present in culture filtrates of different age were made spectrophotometrically. To a 2 ml. aliquot of the culture filtrate, 4 ml. of the ferric chloride-perchloric acid reagent was added, and color development was allowed to proceed for 25 minutes. At this time optical density measurements were made at 530 mμ with a Beckman DU spectrophotometer, using solutions of known concentrations of IAA, similarly treated, as reference standards. This procedure assumes that

the absorption at 530 mμ is due entirely to IAA, which is not necessarily true, therefore resulting in maximal values for IAA.

The quantities of IAA found were 2.2×10^{-5} M after 10 days incubation, 4×10^{-5} M after 17 days, and 1.1×10^{-4} M after 24 days. The latter concentration is equivalent to the highest values found by PILET (1, 2) in rusted plants. It is obvious, therefore, that the increases in auxin level which have been reported in rust-infected plants may in all probability be attributed entirely to the metabolic activities of the infecting rust fungus, the host merely serving as a source of the precursor, tryptophane. Studies of the biosynthesis of IAA in higher plants have indicated that it arises from tryptophane, and that indole acetaldehyde is an intermediate.

Two possible pathways have been shown to exist, one of which involves indole pyruvic acid and the other tryptamine as intermediates. In fungi, the production of IAA by *Rhizopus suinus* (7) and by *Ustilago zeae* (8) has been shown to follow the path from tryptophane to indolepyruvic acid to indole acetaldehyde to IAA. Experiments were therefore performed in attempts to determine the nature of the intermediates in IAA synthesis by *Gymnosporangium juniperi-virginianae*.

Filtrates from cultures grown in the basal medium plus 0.1 per cent tryptophane for three months were used. The filtrates were extracted three times with equal volumes of ether, the ether solutions were pooled, and the ether was then removed by evaporation. The residue from this operation was taken up in a minimal quantity of distilled water. This solution was spotted onto strips of Whatman No. 1 filter paper, and unidimensional ascending chromatograms were run with isopropanol : ammonia : water, 10 : 1 : 1 by volume as the developing solvent mixture. Development was allowed to proceed for several hours, whereupon the strips were removed and allowed to dry in air.

Preliminary trials were made with a number of spraying reagents, including a solution of *p*-dimethylaminobenzaldehyde in 1.0 N HCl, the ferric chloride-sulphuric acid reagent of TANG and BONNER (9), the ferric chloride-perchloric acid reagent as prepared by SEN and LEOPOLD (10), and a modification of the potassium nitrite-nitric acid reagent of MITCHELL and BRUNSTETTER (11). The latter gave the most satisfactory results in our hands, and was used in all further work. As prepared by us, 1 gm. of potassium nitrite is added to a mixture of 20 ml. concentrated nitric acid and 80 ml. of 95 per cent ethanol; after a brief period the solution is filtered, to remove the excess of potassium nitrite.

When paper strips developed in the isopropanol : ammonia : water solvent mixture were sprayed with the nitrite reagent, two spots were found, a red one at R_F 0.37 and a purple spot at R_F 0.69. Additional strips of paper were thereupon spotted with the extract from the culture filtrates, and chromatograms were run with water as the developing solvent. Upon spraying with the nitrite reagent, two spots were again found, but their relative positions had reversed, the purple spot occurring at a location corre-

sponding to R_F 0.28 and the red one now being found at R_F 0.79. Examination of the values reported for indole compounds in these two solvent systems by SEN and LEOPOLD (10) strongly suggested that the red spot (R_F 0.37 in isopropanol : ammonia : water, 0.79 in water) was due to IAA and that the purple spot (R_F 0.69 in isopropanol : ammonia : water, 0.28 in water) was due to tryptamine. Chromatograms were therefore run with the known compounds using both solvent systems, and satisfactory agreement was obtained. It may therefore be concluded that indole acetic acid is definitely produced by *Gymnosporangium juniperi-virginianae,* and that tryptamine is an intermediate in this process.

In the paper chromatograms developed in both the isopropanol: ammonia : water solvent mixture and in water, only two spots were found, neither of which corresponded to indole acetaldehyde, which is an intermediate in either scheme of IAA biosynthesis. It seemed possible that neither of these solvent systems would result in the separation of this material from tryptamine or from IAA as a discrete spot. Very little is known about the chromatographic behavior of indole acetaldehyde, but SEN and LEOPOLD (10), quoting YAMAKI and NAKAMURA (12), give its R_F in 70 per cent ethanol as 0.45, its color reaction with the nitrite reagent not being stated. Accordingly chromatograms of the rust filtrate were run with 70 per cent ethanol as the solvent, and upon spraying the paper strips with the nitrite reagent, a yellow spot was found at R_F 0.45. Since indole aldehyde gives a yellow color with this reagent (10), it seems likely that indole acetaldehyde might do so also. The evidence therefore strongly favors the presence of indole acetaldehyde in the filtrates from *Gymnosporangium,* as an intermediate in IAA biosynthesis.

Cultures of the cedar apple rust fungus, *Gymnosporangium juniperi-virginianae* Schw., produce indole acetic acid as a metabolic product. It is shown by paper chromatography that the formation of indole acetic acid from its precursor, tryptophane, involves tryptamine and indole acetaldehyde as intermediates. The quantity of indole acetic acid produced by this rust attains a concentration of 1.1×10^{-4} M. This concentration is comparable to those which have been reported in rust-infected plant tissues, and suggests that the high levels found may be attributed entirely to indole acetic acid synthesis by the infecting rust fungi.

This project has been supported by a grant from the Carnegie Foundation, which is gratefully acknowledged.

Zusammenfassung

Kulturen des Zeder-Apfelrostpilzes, *Gymnosporangium juniperi-virginianae* Schw., erzeugen Indolessigsäure als Stoffwechselprodukt. Vermittels Papierchromatographie zeigt sich, daß in der Bildung der Indolessigsäure aus ihrem Vorläufer Tryptophan, Tryptamin und Indolessigaldehyd als

Zwischenstufen erscheinen. Die Menge der Indolessigsäure, die durch diesen Rostpilz erzeugt wird, erreicht eine Konzentration von 1.1×10^{-4} M. Sie ist den Konzentrationen vergleichbar, die in den mit Rostpilzen infizierten Pflanzengeweben gefunden wurden. Diese Tatsache deutet darauf hin, daß die vorgefundenen großen Mengen möglicherweise ganz der durch den Rostpilz verursachten Synthese der Indolessigsäure zuzuschreiben sind.

Literature cited

1. Pilet, P.-E., 1952: Ber. Schweiz. Botan. Gesellsch. **62**, 269.
2. — —, 1953: Experientia **9**, 300.
3. Hirata, S., 1954: Ann. Phytopath. Soc. Japan **19**, 33.
4. Hotson, H. H. and Cutter, V. M., 1951: Proc. Natl. Acad. Sci. (U. S.) **37**, 400.
5. Cutter, V. M., 1951: Trans. N. Y. Acad. Sci., Ser. II, **14**, 103.
6. Gordon, S. A. and Weber, R. P., 1951: Plant Physiol. **26**, 192.
7. Thimann, K. V., 1935: J. Biol. Chem. **109**, 279.
8. Wolf, F. T., 1952: Proc. Natl. Acad. Sci. (U. S.), **38**, 106.
9. Tang, Y. W. and Bonner, J., 1947: Arch. Biochem. **13**, 11.
10. Sen, S. P. and Leopold, A. C., 1954: Physiol. Plantarum **7**, 98.
11. Mitchell, J. and Brunstetter, B., 1939: Bot. Gaz. **100**, 802.
12. Yamaki T. and Nakamura, K., 1952: Sci. Papers Coll. Gen. Educ., Univ. Tokyo **2**, 81.

Besprechungen

Linskens, H. F., Papierchromatographie in der Botanik. Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1955. XII, 253 S., 63 Abb. Ganzleinen DM 38,—.

Mit der Entwicklung der Papierchromatographie eröffnete sich der botanischen Forschung die Möglichkeit, eine Vielzahl von Problemen erneut oder überhaupt erstmals aufzugreifen, zu denen uns bisher wegen der methodischen Schwierigkeiten der Zugang ungemein erschwert oder gar verschlossen war. Die von Jahr zu Jahr vermehrte Anwendung und zunehmende Bedeutung der Papierchromatographie, insbesondere auch bei der Bearbeitung phytopathologischer Fragen, hat zur Folge gehabt, daß heute bereits eine sehr große Zahl von Veröffentlichungen in der Weltliteratur erschienen ist, in denen eine schier unübersehbare Fülle methodischer Einzelheiten wiedergegeben wird. Es ist daher außerordentlich zu begrüßen, wenn der Herausgeber Linskens erstmals den Versuch unternommen hat, in Zusammenarbeit mit mehreren Fachgenossen den derzeitigen Stand unserer methodischen Kenntnisse bei der Untersuchung derjenigen Stoffgruppen aufzuzeigen, die für die botanische Forschung von besonderem Interesse sind. Ein großer Wert des Buches darf noch darin erblickt werden, daß die einzelnen Bearbeiter nicht wahllos sämtliche einschlägigen Methoden referieren, sondern sich als Experten ihres Arbeitsgebietes auf die Darstellung der bewährtesten Verfahren beschränken. Die theoretischen und wichtigsten praktischen Grundlagen werden als bekannt vorausgesetzt. Den allgemeinen einführenden Teil schrieb Linskens, nur den Abschnitt „Isotopentechnik“ übernahm Sanwal. Der spezielle Teil gliedert sich in: Anorganische Kationen und Anionen (Seiler und Prijs), Kohlenhydrate (Stange), Organische Säuren (Schweppe) mit dem Unterabschnitt Flechtensäuren (Wachtmeister), Proteine und ihre Bausteine (Dörfel) mit dem Unterabschnitt Enzyme (Linskens), Nucleinsäuren und ihre Bausteine (Linskens), Wirkstoffe: 1. Wachstumsregulatoren und verwandte Stoffe (Sen), 2. Vitamine (Linskens), Hemmstoffe: 1. Antibiotica (Yamatodani), 2. Welketoxine (Zähner), Pigmente: 1. Strukturgebundene Farbstoffe (Linskens), 2. Zellsaftlösliche Pigmente (Hänsel), Phenole (Linskens) und Alkaloide (Romeike). Jeder Abschnitt schließt mit einem Literaturverzeichnis.

Man wird dem Herausgeber und seinen Mitarbeitern Dank wissen, daß sie diesen Leitfaden mit Geschick und Erfolg zusammengestellt haben, für den ein dringendes Bedürfnis bestand. Auch wenn die intensive Arbeit auf dem Gebiet der Papierchromatographie zweifellos in wenigen Jahren zu mancherlei Verbesserungen führen dürfte, stellt schon die erste Auflage dieses Buches eine wertvolle Bereicherung unseres Schrifttums dar.

Hassebrauk, Braunschweig

Zuckerrübenbau

Ein Leitfaden für die Praxis

Von Prof. Dr. HANS LÜDECKE

Leiter der Forschungsstelle für Zuckerrübenanbau Holtensen bei Göttingen

1952. 196 Seiten mit 50 Abbildungen. In Ganzleinen DM 12,—

Alle Maßnahmen, die zur Pflege der Zuckerrübe notwendig sind, führt dieses Buch auf. Hier findet der Praktiker die genauen Düngeanweisungen, die Arbeitserleichterungen bei den Feldarbeiten und alles, was bei geringstem Arbeitsaufwand hohe Erträge nach Menge und Güte erzielen läßt: z. B. Sortenwahl, Aussaat, Ernteverfahren, Lagerung, Verwertung, *Schädlingsbekämpfung*

„Besonders erfreulich ist es für den Phytopathologen, daß den Krankheiten und Schädlingen der Rübe ein ihrer Bedeutung entsprechendes Kapitel eingeräumt worden ist. Die Stoffgliederung erfolgte übersichtlich in Krankheiten und Schädlinge 1. an der Keimpflanze, 2. am Wurzelkörper und 3. am Rübenblatt. Jeweils untergliedert in Bakterienkrankheiten, Pilzkrankheiten, tierische Schädlinge und Viruskrankheiten, ist ein schnelles Zurechtfinden möglich. Die in letzter Zeit immer weiter um sich greifende Cercospora-Blattfleckenkrankheit und die Vergilbungskrankheit der Rüben erfahren eine eingehende Behandlung." Nachrichtenblatt für den deutschen Pflanzenschutzdienst

„Das nach Inhalt und Ausstattung gleich vorzügliche Werk kann allen beteiligten Kreisen, insbesondere den Landwirten, Wirtschaftsberatern, der Landjugend und den Studierenden der Landwirtschaft, zur Anschaffung dringend empfohlen werden."

Agrarbibliographie

Krankheiten und Schädlinge der Zierpflanzen und ihre Bekämpfung

Von Ob.-Reg.-Rat Dr. H. PAPE

Mitglied der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft
Vorsteher des Laboratoriums für gärtnerischen Pflanzenbau, Kiel-Kitzeberg

Vierte, neubearbeitete und erweiterte Auflage

1955. 567 Seiten, 474 Textabbildungen, 4 Farbtafeln. Ganzleinen DM 53,80

Dieses umfassende Werk behandelt den gesamten Pflanzenschutz von Topf- und Schnittblumen, Freilandblumen aller Art, Stauden und Ziergehölzen. Die Bekämpfungsmethoden liegen nicht allein in der Anwendung von chemischen Mitteln, sondern auch in der Verbesserung der Kulturmethoden, wofür praktische Hinweise gegeben werden.

„Einer besonderen Empfehlung für den ‚Pape' bedarf es eigentlich nicht. Es handelt sich hier um ein Standardwerk der deutschen Pflanzenschutzliteratur, das auch internationalen Ansprüchen genügt.
Blumen- und Schmuckpflanzenbau zu befassen hat, und es ist ebenso notwendig für den praktischen Anbauer." Pflanzenbau und Pflanzenschutz

VERLAG PAUL PAREY / BERLIN UND HAMBURG

Verlag: Paul Parey, (1) Berlin SW 68, Lindenstr. 44-47, Tel. 61 44 68/69. Herausgeber: Prof. Dr. E. Gäumann, Zürich 6, Universitätsstr. 2, Prof. Dr. M. Klinkowski, Aschersleben, Ermslebener Str. 52, und Prof. Dr. H. Richter, Berlin-Dahlem, Königin-Luise-Straße 19. Printed in Germany. Druck von A. W. Hayn's Erben, Berlin SO 36. — Erscheinungsweise: Jährlich etwa 10 – 12 Hefte (4 Hefte = 1 Band).